EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUß EINER NEUTRONEN-GAMMA-MISCHBESTRAHLUNG AUF DAS IMMUNSYSTEM, DARGESTELLT AM MODELL DER IMMUNITÄT VON KANINCHEN GEGEN STAPHYLOKOKKEN-ENTEROTOXIN-B

WOLFGANG KRAUS

Diss
München

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen
Fakultät der Ludwig- Maximilians- Universität in
München

Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Anton Mayr

angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr.
H.G. Buschmann

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS EINER NEUTRONEN- GAMMA- MISCHBESTRAHLUNG AUF DAS IMMUNSYSTEM, DARGESTELLT AM MODELL DER IMMUNITÄT VON KANINCHEN GEGEN STAPHYLOKOKKEN- ENTEROTOXIN-B

Inaugural- Dissertation

Zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig- Maximilians- Universität in München

von
Wolfgang Kraus
aus
Mannheim

München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan: Prof: Dr. W. Leidl

Referent: Prof Dr. H.G. Buschmann

Korreferent: Prof. Dr. K. Tempel

Tag der Promotion: 27. Juli 1984

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Literatur	2
2.1.	Staphylokokken- Enterotoxine (SE)	2
2.1.1.	Allgemeines über SE	2
2.1.2.	Eigenschaften der SE	3
2.1.3.	Immunisierung mit SE	5
2.2.	Methoden des Nachweises von Antikörpern gegen SE	8
2.2.1.	Gel- Präzipitationsreaktion	8
2.2.2.	Radio- Immuno- Assay (RIA)	9
2.3.	Neutronenstrahlen	12
2.3.1.	Eigenschaften der Neutronen	12
2.3.2.	Erzeugung von Neutronenstrahlen	14
2.3.3.	Biologische Wirkung der Neutronenstrahlen	14
2.3.3.1.	Relative biologische Wirksamkeit (RBW)	14
2.3.3.2.	Wirkung der Neutronen auf den Organismus	16
2.3.3.3.	Wirkung ionisierender Strahlung auf das Immunsystem	17
3.	Eigene Untersuchungen	21
3.1.	Material	21
3.1.1.	Staphylokokken- Enterotoxin- B zur parenteralen Immunisierung	21
3.1.2.	Versuchstiere	21
3.1.3.	Reagenzien	21

		Seite
3.1.4.	Strahlenquelle	23
3.2.	Versuchsdurchführung	24
3.2.1.	Gruppeneinteilung der Versuchstiere	24
3.2.2.	Blutentnahme	25
3.2.3.	Durchführung der Bestrahlung	25
3.2.4.	Antikörpernachweis	25
3.2.4.1.	Arbeitsanleitung für den Agar- Gel-Präzipitations- Test (Microslide)	26
3.2.4.2.	Arbeitsanleitung für den RIA	26
4.	Ergebnisse	29
4.1.	Neutronen - Ganzkörperbestrahlung mit 200 rad	29
4.2.	Neutronen - Ganzkörperbestrahlung mit 300 rad	41
5.	Besprechung der Ergebnisse	53
5.1.	Einfluß einer Neutronen- Gamma- Mischbestrahlung von 200 und 300 rad auf die Bildung von primären Antikörpern gegen SEB (Versuche I und II/200 und 300 rad)	53
5.1.1.	Bestrahlung mit 200 rad	53
5.1.2.	Bestrahlung mit 300 rad	54
5.1.3.	Einfluß des Bestrahlungszeitpunktes auf die Antikörperbildung	55
5.2.	Einfluß einer Neutronen- Gamma- Mischbestrahlung von 200 und 300 rad auf die Bildung von sekundären Antikörpern gegen SEB (Versuche III und IV/200 und 300 rad)	57
5.2.1.	Bestrahlung mit 200 rad	57
5.2.2.	Bestrahlung mit 300 rad	58

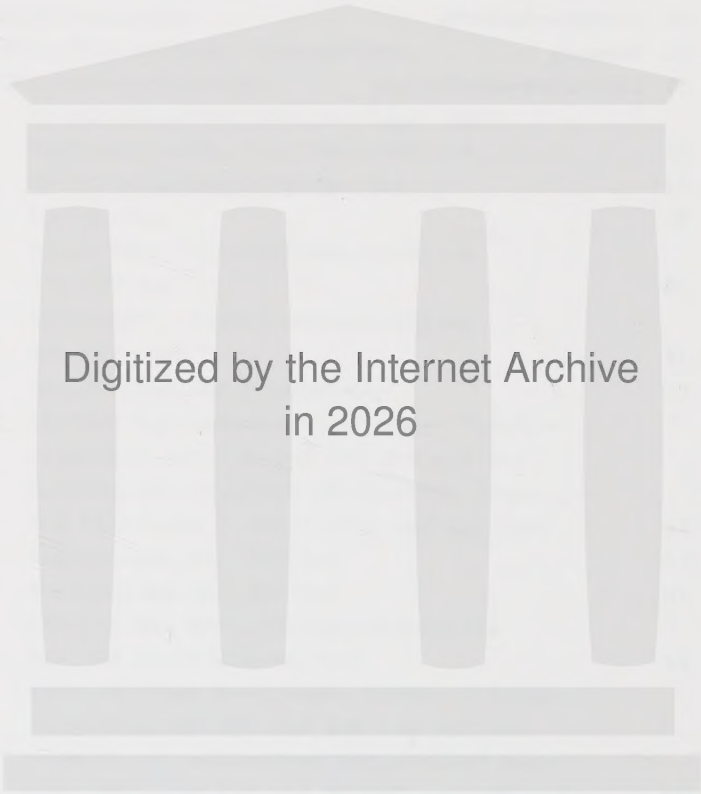
Seite

5.2.3. Auswirkungen auf die Bildung sekundärer Antikörper durch Bestrahlung vor bzw. nach Boosterung 58

6. Zusammenfassung 60

7. Summary 61

8. Literaturverzeichnis 62


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41534917_0013

1. Einleitung

Die Beschäftigung mit der biologischen Strahlenwirkung besitzt im Rahmen der Kernenergiediskussion natürlich eine besondere Aktualität, sodaß die Wechselwirkung zwischen Strahlung und biologischen Systemen ein interessantes Studienobjekt darstellt.

Die Strahlenwirkung umfaßt alle Ebenen der biologischen Organisation, beginnend bei der Wechselwirkung mit den Atomen bis hin zur Entstehung von Tumoren und der genetischen Belastung späterer Generationen.

Die Interaktion zwischen Strahlung und belebter Umwelt ist so alt wie das Leben selbst und spielte bei der Entstehung desselben sicherlich eine ebenso gewichtige Rolle, wie bei der weiteren Evolution.

Schon seit Beginn dieses Jahrhunderts wird die schädigende Wirkung ionisierender Strahlen auf den Organismus von zahlreichen Forschern intensiv untersucht, wobei die Mehrzahl der Arbeiten auf dem Gebiet der Röntgen- und Gammastrahlen existiert. Es gibt auch genügend Erfahrungen über die Einflüsse dieser Strahlen auf das Immunsystem und seine Reaktion gegenüber körperfremden Substanzen.

Im Vergleich zu diesen elektromagnetischen Strahlen soll in dieser Arbeit die Wirkung einer korpuskulären Neutronenstrahlung, mit 10% Gamma- Anteil, auf die Immunreaktion am Beispiel der Impfung von Kaninchen mit Staphylokokken- Enterotoxin- B dargestellt werden. Besondere Berücksichtigung findet hierbei der Zeitpunkt der Bestrahlung in bezug auf die Antigenverabreichung.

2. Literatur

2.1. Staphylokokken-Enterotoxine (SE)

2.1.1. Allgemeines über SE

Intoxikationen durch SE spielen heute bei bakteriell bedingten Lebensmittelvergiftungen eine immer gewichtigere Rolle. Nach oraler Aufnahme rufen diese Toxine nach einer Inkubationszeit von einer bis sechs Stunden Erbrechen und Diarrhoe hervor, wobei die krankmachende Dosis für den Menschen auf ca. 0,14 µg/kg Körpergewicht geschätzt wird; weitere Symptome können sein: Übelkeit, Schwindelgefühl, Blutdruckabfall, Fieber oder auch subnormale Temperaturen, Blut im Stuhl und Nierenkoliken (Steinhardt 1982).

Die SE werden aufgrund der Tatsache, daß für ihre Freisetzung eine Zell-Lysis nicht notwendig ist, zu den bakteriellen Exotoxinen gezählt, welche in der Bakterienzellwand gebildet werden (Minor u. Marth 1976). Die Aufnahme in den Organismus geschieht i. d. R. über den Darmkanal, und auch die Erkrankungen betreffen meistens den Darm.

Zur Bildung von Enterotoxinen sind nur koagulasepositive Staphylokokken-Stämme der Gattung Staph. aureus befähigt (Evans, Buettner u. Niven 1950; Casman 1965). Von diesen wiederum bilden nur ca. 50% Enterotoxine (Casman 1967; Davis et al. 1980). Koagulase-negative Staphylokokken bilden nur aus-

nahmsweise Enterotoxin (Bergdoll 1970; Bergdoll 1972; Lotter u. Genigeorgis 1977).

2.1.2. Eigenschaften der SE

SE sind wasserlösliche Proteine, die aufgrund ihrer Reaktion mit spezifischen Antikörpern in sechs serologische Gruppen eingeteilt und alphabetisch bezeichnet werden (Casman et al. 1963):

Typ A - SEA (Casman 1960)
Typ B - SEB (Bergdoll et al. 1959)
Typ C - SEC (Bergdoll et al. 1965)
Typ D - SED (Casman et al. 1967)
Typ E - SEE (Bergdoll et al. 1971)
Typ F - SEF (Bergdoll et al. 1981)

Man geht davon aus, daß noch weitere, bisher nicht isolierte und charakterisierte SE-Typen existieren (Bergdoll 1972; Minor u. Marth 1976).

In der Häufigkeit des Auftretens der SE-Typen bestehen deutliche Unterschiede, wobei SEA als das wichtigste, Lebensmittelvergiftungen erzeugende Enterotoxin bezeichnet wird (Bergdoll et al. 1959; Casman 1960; Bergdoll et al. 1965; Casman et al. 1967; Donelly et al. 1967; Untermann u. Sinell 1970; Untermann 1972; Wieneke 1974; Fey 1978; Adekeye 1980; Untermann 1980; Buxser u. Bonvetre 1981).

Die größten Toxinmengen werden von Staphylokokken des Typs B gebildet (Bergdoll 1972), womit dieses Toxin aus Lebensmitteln und in vitro auch

am leichtesten zu gewinnen ist.

Ihrem Aufbau nach sind SE einfache Polypeptidketten, die sich je nach Typ aus 236 bis 296 Aminosäureresten zusammensetzen. Das Molekulargewicht liegt zwischen 26000 und 35000 (Schantz et al. 1973; Bergdoll et al. 1973); ein exakter Wert existiert bisher nur für SEB (28366, nach Dayhoff 1972). Die Sequenz der Aminosäuren ist ebenfalls nur für SEB genau bekannt (Nützel 1980).

Allen SE ist ein hoher Anteil an Lysin, Asparaginsäure, Glutaminsäure und Tyrosin gemeinsam (Bergdoll 1976).

Bei SEB verbindet eine Disulfidbrücke zwei Cystin-Reste in der Kettenmitte, wodurch sich das Molekül als Aminosäurenschlinge darstellt (Bergdoll 1975). Diese "Cystin-Schleife" liegt in ähnlicher Form auch bei den anderen SE-Typen vor(Bergdoll 1976).

Im Gegensatz zu den Staphylokokken selbst besitzen deren Toxine eine extrem hohe Hitzestabilität. Dies zeigte sich bei Versuchen von Read und Bradshaw (1966), in denen gereinigtes SEB durch Erhitzung auf Temperaturen von 98,9°C und 122,6°C nur teilweise inaktiviert werden konnte. Nach Ansicht der Autoren wird SEB durch Pasteurisierung von Milch nicht beeinträchtigt; selbst in ultrahocherhitzter Milch muß noch mit Enterotoxingehalten gerechnet werden, die klinische Symptome bei Menschen auslösen können (genauere Angaben bei Brunnthaler 1976).

Die Hitzeresistenz anderer Enterotoxintypen und ihre Thermostabilität in verschiedenen Medien wurde von Terplan und Zaadhof (1974) sowie von Kuhnt (1974) referiert.

2.1.3. Immunisierung mit SE

Als Proteine sind SE erwartungsgemäß in der Lage, die Bildung spezifischer Antikörper zu induzieren. Bergdoll, Surgalla und Dack identifizierten 1959 erstmals einen spezifischen präzipitierenden Antikörper (Ak) mit SE-neutralisierenden Eigenschaften. Hierbei wurde auch die Vermutung bestätigt, daß es verschiedene immunologische SE-Typen gibt.

Aus vielen in der Literatur beschriebenen Versuchen geht hervor, daß sowohl ein natürlicher Kontakt mit SE als auch eine aktive Immunisierung mit gereinigten Enterotoxinen oder Enterotoxoiden (inaktivierten Toxinen) eine Antikörperreaktion im Organismus hervorruft, wobei eine natürlich erworbene Immunität weniger belastbar ist, als eine durch aktive Immunisierung hervorgerufene (Steinhardt 1982).

Die aktive Immunisierung gegen SE wird fast ausschließlich zur Gewinnung von Antikörpern für diagnostische Zwecke durchgeführt; hierbei ist das Kaninchen das Versuchstier der Wahl (Bergdoll 1977), obwohl auch andere Tierarten für diesen Zweck herangezogen werden.

Zur Steigerung der immunogenen Wirkung von SE werden diese mit Adjuvans verabreicht. Beson-

ders geeignet für die Immunisierung von Kaninchen mit SE ist das inkomplette und komplette Freundśche Adjuvans (ohne bzw. mit abgetöteten Mykobakterien), welches am besten mit relativ kleinen Antigenmengen (bis 100/ug) subcutan appliziert wird (Tizard 1982).

Der Immunisierungserfolg ist außer von der Wirksamkeit des Impfstoffes auch von der Art der Verabreichung des Antigens abhängig. Bei den SE scheint die parenterale Immunisierung (z.B. subcutan, intracutan, intramuskulär) unter vergleichbaren Bedingungen wirkungsvoller zu sein, als die Immunisierung per os oder per Aerosol. Die Tatsache, daß zur Erzielung einer belastbaren Immunität bei den letztgenannten Applikationsarten vergleichsweise hohe Antigendosen notwendig sind, ist u.a. dadurch bedingt, daß ein Teil des Antigens im Magen-Darm-Trakt oder bei der Passage der Darmschranke zerstört wird bzw. nur ein Teil davon inhaliert wird (Steinhardt 1982). Entsprechende Untersuchungen von Einöder (1979) zeigen, daß eine parenterale Immunisierung von Kaninchen mit SEB wesentlich geringere Mengen an Antigen erfordert, als eine aerogene.

Bisherige Untersuchungen zeigen, daß gereinigte native SE zur Erzeugung einer wirksamen Immunität besser geeignet sind als Enterotoxoide, weil der durch letztere hervorgerufene Immunitätszustand deutlich weniger belastbar ist und auch später eintritt (Steinhardt 1982).

Ein wesentlicher Vorteil des Enterotoxoids gegenüber gereinigtem Enterotoxin liegt jedoch darin, daß aufgrund der Inaktivierung der toxophoren Gruppe bei der Immunisierung keine Intoxikationen des Impflings zu beobachten sind, selbst bei relativ hoher Dosierung. Außerdem sind mit polymeren Enterotoxoiden wesentlich höhere Antikörpertiter zu erreichen als mit Toxoiden vom monomeren Typ, was Maschefsky(1981) in Immunisierungsversuchen an Kaninchen feststellen konnte. Durch Zusatz von Adjuvantien, wie Aluminiumhydroxid ist eine effektivere Immunisierung auch mit Enterotoxoiden zu erzielen (Silverman et al. 1969).

2.2. Methoden des Nachweises von Antikörpern gegen SEB

Auf der Suche nach rationellen und sensiblen Methoden zum Nachweis von SE gelangten die Präzipitationsreaktionen in Gelen auf dem Gebiet der Serologie und Immunbiologie zu größerer Bedeutung, da durch sie auch eine gewisse Quantifizierung des Antikörpergehaltes möglich ist.

Die größte Empfindlichkeit zeigen jedoch radioimmunologische Nachweismethoden wie der Radio-Immuno-Assay.

2.2.1. Gel- Präzipitationsreaktion

Die Eigenschaft der Präzipitation von Antigen-Antikörper- Komplexen wird in der Routinediagnostik ausgenützt, um gesuchte Antikörper nachzuweisen. Präzipitationsreaktionen in Gelen ermöglichen hier neben dem qualitativen Nachweis auch eine gewisse Quantifizierung des Antikörper-Gehaltes (semiquantitativer Nachweis).
In dieser Arbeit wurde die radiale Doppeldiffusion nach Ouchterlony zum Nachweis der Antikörper gegen SEB herangezogen. Das Verfahren beruht darauf, daß Antigen und Antikörper von ihrem jeweiligen Auftragungsort aus radiär in ein Gel diffundieren und nach entsprechender Reaktionszeit Antigen- Antikörper- Komplexe bilden, die als Präzipitationsbanden sichtbar werden (modifiziert nach Sommerfeld u. Terplan 1974).

2.2.2. Radio- Immuno- Assay (RIA)

Der Radio- Immuno- Assay (RIA) ist eine analytische Methode, bei der die Empfindlichkeit der radioaktiven Messung mit der Spezifität der Antigen- Antikörper- Reaktion gekoppelt ist. Es können Substanzen bis zu einer Konzentration von Pikogramm pro Milliliter neben einem Überschuß sonst üblicherweise störenden Substanzen gemessen werden (z.B. in Serum) (Strecker et al. 1979).

Radiojod- markierte Antikörper und Antigene wurden 1950 erstmals zum Studium von Antigen- Antikörper- Reaktion eingesetzt (Pressmann u. Eisen 1950). Zur Klärung des Metabolismus von ^{131}J- Insulin fanden Berson und Yalow 1956, daß mit körperfremdem Insulin behandelte Diabetiker insulinbindende Antikörper gebildet hatten, die das markierte Insulin banden (Eckert 1976).
Eine zusätzliche Gabe von unmarkiertem Insulin verdrängte jedoch ^{131}J- Insulin wieder aus dem Gammaglobulin- Komplex. Berson und Yalow nutzten diesen Effekt, um 1958 eine quantitative in- vitro-Bestimmungsmethode zu entwickeln.
Ekins verwendete wenig später ein ähnliches analytisches Verfahren für das Schilddrüsenhormon Thyroxin. Er benutzte jedoch anstelle des Antigens das Thyroxin- bindende Globulin, das im Körper als Transportprotein für Schilddrüsenhormone dient.

Der RIA wurde von Ekins erforscht und weiterentwickelt und auf Peptidhormone und andere antigene Substanzen ausgedehnt. Durch Bindung von nichtantigenen Stoffen (Arzneimittel, Releasing- Hormone u.a.) an hochmolekulare Trägersubstanzen

können auch für diese Antikörper gebildet werden, die mittels RIA nachweisbar sind.
Im RIA wird eine spezifische Immunreaktion mit einem radioaktiven Indikator kombiniert. In der Antigen- Antikörper- Reaktion wird ein unmarkiertes Antigen (Ag) durch ein radioaktiv markiertes (Ag^+) ersetzt, welches immunologisch mit ersterem identisch ist.
Die Reaktionen

$$Ag + Ak \rightleftharpoons AgAk$$
$$Ag^+ + Ak \rightleftharpoons Ag^+Ak$$

laufen analog ab und führen zu einem Reaktionsgleichgewicht zugunsten des Reaktionsproduktes.
Im RIA konkurrieren eine definierte Menge an radioaktiv markiertem Antigen (Tracer) und das zu bestimmende Antigen um eine bestimmte Menge Antikörper, wobei der Antikörper im Vergleich zum Antigen im Unterschuß vorliegt. Aufgrund der Konkurrenz von Antigen und Tracer bezeichnet man den RIA auch als competitiven Proteinbindungs-Assay.

$$Ag + Ag^+ + Ak \rightleftharpoons \begin{matrix} AgAk + Ag^+ \\ Ag^+Ak + Ag \end{matrix}$$

Mit steigender Menge an zu bestimmendem Antigen sinkt die Menge des gebundenen radioaktiven Tracers. Unter der Bedingung, daß alle Bindungsstellen des Antikörpers völlig mit Antigen abgesättigt sind und die Gesamtmenge aus Antigen und Tracer größer ist als die Antikörpermenge, gilt folgende Beziehung:

$$\frac{Ak}{Ag_{ges.}} = \frac{Ak}{Ag + Ag^+}$$

Da sich Antigen und Tracer bezüglich der Bindung am Antikörper gleich verhalten, folgt:

$$\frac{(AgAk)_{ges.}}{Ag_{ges.}} = \frac{(Ag^{+}Ak)}{Ag^{+}} = \frac{Ak}{Ag + Ag^{+}}$$

Die gesamte Menge an Antigen und Tracer muß immer größer sein, als die Antikörpermenge, da sonst die gesamte eingesetzte Tracermenge vom Antikörper gebunden wird (Strecker et al. 1979).

Somit ist die Bindung zwischen markierten Antigenmolekülen und Antikörpern ein Maß für die Konzentration der zu bestimmenden Verbindung.
Um den Anteil der gebundenen radioaktiv markierten Verbindung festzustellen, müssen aus dem Inkubationsgemisch alle unmarkierten und markierten Antigen- Antikörper- Komplexe von nicht gebundenem unmarkiertem und markiertem Antigen getrennt werden. Dies erfolgt aufgrund der Molekülgröße des Antigen- Antikörper- Komplexes, seiner begrenzten Löslichkeit bei bestimmten pH- Werten, verschiedener Wanderungsgeschwindigkeit, durch Denaturierung und Ausfällung mit Salzlösungen und organischen Lösungsmitteln (Einöder 1979).
Die Auswertung geschieht durch Zählung der beim radioaktiven Zerfall gemessenen Impulse, die in Beziehung gesetzt werden zur eingesetzten Gesamtaktivität des markierten Antigens.
Die Empfindlichkeit des RIA hängt für den Antikörpernachweis von der Spezifität des Antigens ab. Sie ist außerdem umso höher, je stärker das Antigen markiert ist (Eckert 1976).

2.3. Neutronenstrahlen

2.3.1. Eigenschaften der Neutronen

Freie Neutronen wurden erstmals im Jahre 1930 durch Beschuß der Elemente Lithium, Beryllium, Bor und Fluor mit α- Teilchen erzeugt, aber nicht als solche erkannt; man hielt sie für sehr harte Gamma- Quanten (Bothe u. Becker 1930). Erst Chadwick erkannte 1932, daß es sich bei der beobachteten Strahlung um bisher unbekannte Teilchen handelte, die er wegen ihrer neutralen Ladung Neutronen nannte.

Neutron und Proton bilden zusammen die Masse des Atomkerns, wobei die Ladung des Protons positiv, die des Neutrons null ist. Atomkerne ab Massenzahl 30 haben einen Neutronenüberschuß.

Freie Neutronen sind instabile, jedoch langlebige Elementarteilchen mit einer Masse von 1,009 und einer Halbwertzeit von 16,8 min., die sich durch Beta- Zerfall in ein Proton, ein Elektron und ein Antineutrino umwandeln (Schalnow 1963). Im Gegensatz zu Gamma- und Röntgenstrahlen, die eine elektromagnetische Strahlung darstellen, ist der Neutronenfluß eine Partikelstrahlung (wie auch Alpha- und Beta- Strahlung). Wegen fehlender Ladung sind die Neutronen nicht fähig, Atome eines Substrates unmittelbar zu ionisieren und werden deshalb nicht von deren Elektronenhüllen gebremst. Sie können also dicke Materieschichten durchdringen. Die gesamte kinetische Energie

der Neutronen wird auf die Atomkerne des Substrates übertragen, wobei sich die Bewegungsbahnen der Neutronen verändern (Vladimirov 1981).

Man unterscheidet verschiedene Formen der Wechselwirkung zwischen Neutron und Atomkern, die durch die Energie des Neutrons und die Zusammensetzung des bestrahlten Stoffes bestimmt werden.

a) Strahlungseinfang langsamer Neutronen ($\leq$0,5eV)

Das Neutron wird durch den Kern eingefangen und gibt die gesamte Energie an den Kern weiter, die wiederum als Gammastrahlung emittiert wird.

b) Elastischer Stoß mittelschneller Neutronen (0,5 eV - 10 KeV)

Neutron und Kern verhalten sich wie elastische Kugeln.

c) Inelastischer Stoß schneller Neutronen (10 KeV - 10 MeV)

Das Neutron wird eingefangen und mit veränderter Energie wieder emittiert.

d) Unelastischer Stoß sehr schneller Neutronen ($\geq$ 10 MeV)

Das Neutron tritt als Teil eines anderen Partikels (Alpha- Teilchen) auf, wobei getroffene Atomkerne zerbrechen können (Spallation) (Vladimirov 1981; Kiefer 1981).

2.3.2. Erzeugung von Neutronenstrahlen

Freie Neutronen erhält man aus Kernreaktionen, die durch den Beschuß bestimmter Elemente mit geladenen Teilchen ausgelöst werden; letztere stammen entweder aus radioaktiven Quellen (Radium, Polonium, Plutonium), oder aus Linearbeschleuniger, Zyklotron und Synchrozyklotron.

Radioaktive Quellen:
Ra - Be - und Rb - Be - Neutronenquellen
Po - Be - Neutronenquelle (ohne Gamma- Anteil)
Photoneutronenquellen (Schalnow 1963).

Auch bei Kernfusionsprozessen werden Neutronen freigesetzt.
Besonders intensive Neutronenstrahlung erhält man bei der Spaltung von ^{235}U und ^{239}Pu.

2.3.3. Biologische Wirkung der Neutronenstrahlen

2.3.3.1. Relative biologische Wirksamkeit (RBW)

Für die Wirkung der Neutronen auf Gewebe sind zwei Begriffe von Bedeutung:

a) Der lineare Energietransfer (LET) bezeichnet die Energiemenge, die ein Teilchen oder Photon beim Durchgang durch 1 µm eines bestrahlten Stoffes einbüßt. Der LET hängt bei ungeladenen Neutronen nur von deren Geschwindigkeit ab, wobei die Abhängigkeit umgekehrt proportional ist (langsame Neutronen unterliegen eher einer Kernwechselwirkung).

b) Die relative biologische Wirksamkeit

Da die Ionendichte der einzelnen Strahlenarten unterschiedlich ist, ist auch ihre Wirkung im Körpergewebe verschieden stark. Die Einheit rem[+]) gibt die Strahlendosis an, die bei der Absorption im biologischen Gewebe die gleiche Wirkung entfaltet, wie Röntgenstrahlung mit einer mittleren Ionisationsdichte von 100 Ionenpaaren pro µ Wasser (Pschyrembel 1975).

Die Einheit rad[++]) bezeichnet den Energiebetrag einer Strahlendosis, der von einem Gramm eines bestrahlten biologischen Gewebes absorbiert wird; 1rad = 100 erg/g (Pizzarello 1982).

Es gilt folgende Beziehung: 1rem = fx1rad

wobei f als RBW definiert ist. Die RBW ist die biologische Wirksamkeit einer Strahlung bezogen auf die biologische Wirkung einer mittleren Röntgenstrahlung. Die RBW ionisierender Strahlen wird durch deren Ionisationsdichte bei der Absorption in Wasser ermittelt und gibt Auskunft über die schädigende Wirkung.

Die RBW der Neutronenstrahlen wird beeinflußt von der Dosis, dem bestrahlten Gewebe und der Strahlenenergie.

RBW und LET sind voneinander abhängig; mit steigender Neutronenenergie gehen der Wert des LET und damit die RBW zurück (Vladimirov 1981).

Den Einfluß der Art des bestrahlten Gewebes auf die RBW zeigt folgender Vergleich:

RBW schneller Neutronen im Knochenmark von Mäusen = 1,5 bis 2 (Bond 1964;Davids 1967; Duncan et al. 1969);

RBW im Magen-Darm-Trakt = 3 bis 4 (Bond, Easterday 1959; Hornsey, Field 1974).

[+]) SI-Einheit: 1 Sievert = 100 rem = 1 J/kg (Äquivalento

[++]) SI-Einheit: 1 Grey = 100 rad = 1 J/kg (Energiedosis)

2.3.3.2. Wirkung der Neutronen auf den Organismus

Die biologische Wirkung der Neutronen basiert auf dem großen Anteil leichter Atomkerne (vor allem H-Atome) im biologischen Gewebe. Beim Auftreffen eines Neutrons auf einen H-Atomkern wird dieser aus dem molekularen Verband gestoßen, wobei die gesamte Neutronenenergie übertragen werden kann; der entstehende Rückstoßkern erzeugt seinerseits Ionisierungsprozesse in weiteren Molekülen. Bei Rückkehr der Atomkerne in den Normalzustand wird die Anregungsenergie in Form der Gamma-Strahlung abgegeben. Die Hauptwechselwirkung ist hierbei der elastische Stoß (Pizzarello 1982).

Die Folge der Bestrahlung von Gewebe mit Neutronen ist somit die Schädigung von Biomolekülen, welche stärker ausgeprägt ist, als nach Gamma- oder Röntgenbestrahlung

So entstehen in DNS-Molekülen irreparable Brüche (Kampf et al. 1977; Geraci et al. 1977; Field, Hornsey 1977), was zu einer Unterdrückung der DNS-Synthese führt, besonders in strahlenempfindlichen Geweben wie Thymus, Milz, Knochenmark, Darmschleimhaut und Testes, also Geweben mit hoher germinativer Aktivität.

Bei der Entstehung der akuten Strahlen-Krankheit nach Neutronenbestrahlung sind dieselben Systeme die kritischen, wie nach Gamma-Bestrahlung, nämlich das hämatopoetische Gewebe und der Magen-Darm-Trakt. Jedoch ist die schädigende Wirkung der Neutronen wesentlich größer. Kleintiere sterben nach Neutronenbestrahlung i.d.R. infolge akuter Schädigung des Magen-Darm-Traktes (Lawrence u. Tennant 1937; Vladimirow 1981).

2.3.3.3. Wirkung ionisierender Strahlung auf das Immunsystem

Hinweise auf die immunsuppressive Wirkung von ionisierenden Strahlen finden sich schon ziemlich frühzeitig in der Literatur.

Benjamin und Sluka fanden 1908 heraus, daß Kaninchen, die vor Verabreichung von Rinderserum bestrahlt wurden, das Antigen langsamer eliminierten und weniger Antikörper bildeten, als Kaninchen, die vier Tage nach Injektion von Rinderserum bestrahlt wurden.

Auch Craddock und Lawrence (1948) berichten, daß Röntgenbestrahlung wenig Auswirkung auf die Antikörperbildung habe, wenn sie nach Antigenapplikation erfolge.

Der Effekt einer Bestrahlung variiert mit der zeitlichen Beziehung zwischen Bestrahlung und Antigenverabreichung, d.h. wenn Bestrahlung die Antikörperproduktion unterdrücken soll, muß sie dem Antigen vorausgehen (Dixon et al. 1952).

Kohn (1951) schlug drei Erklärungen für den Unterschied zwischen prä- und post- antigener Bestrahlung vor:

1. Antikörper sind zum Zeitpunkt der post-antigenen Bestrahlung schon anwesend.
2. Die vollständige Entfaltung der Strahlenschädigung dauert einen oder mehrere Tage.
3. Die Initialphase der Antikörperantwort, die zelluläre Bindung des Antigens, ist strahlenempfindlicher als die folgenden Stadien.

Dixon et al. (1952) fanden heraus, daß bei Kaninchen die Antikörperreaktion aus einer kurzen strahlenempfindlichen Adaptationsphase innerhalb zwölf Stunden nach Antigengabe besteht, der eine strahlenresistente Phase folgt, welche für die Dauer der Antikörperreaktion anhält, sodaß eine Bestrahlung zum Zeitpunkt der Antigenverabreichung oder danach weniger Auswirkung auf die Immunreaktion hat.

Whitfield und Youdale (1966) und Zaalberg (1973) erklären die Abhängigkeit des Zeitpunktes der Antigenapplikation vom Bestrahlungszeitpunkt dadurch, daß noch nicht stimulierte Lymphozyten besonders strahlenempfindlich sind.

Dixon et al. (1957) untersuchten direkte und indirekte Auswirkungen ionisierender Strahlen auf die Antikörperreaktion von Kaninchen, die mit Bovinem- Serum- Albumin (BSA) immunisiert worden waren. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß weder die direkte Strahlenwirkung auf immunkompetentes Gewebe, noch die indirekte Wirkung auf den Körper des bestrahlten Tieres allein jeweils eine signifikante Immunsuppression bewirkten; eher waren beide Arten - direkte und indirekte Strahlenwirkung - notwendig, um die Antikörperreaktion zu hemmen.

Aus den oben genannten Versuchen geht hervor, daß ionisierende Strahlen sowohl auf die spezifische Immunantwort als auch auf die unspezifische Resistenz eines Organismus entscheidenden Einfluß haben.

Die indirekten Strahlenwirkungen zeigen sich in einer Herabsetzung der unspezifischen Infektabwehr durch Anämie, Leukopenie, Störungen im Elektrolytgleichgewicht, gastro- intestinalen Störungen und Änderung der Sekretion der Nebennierenrindenhormone (Ellinger 1951, Friedmann 1954)

Eine Bestrahlung führt zur Schädigung von Gewebsschranken, wodurch das Eindringen von Keimen in die Blutbahn begünstigt wird. Dies betrifft vor allem Lunge, Magen- Darm- Trakt und die Haut (Perkins et al. 1956).

Die Auswirkungen von Strahlung auf die spezifische Infektabwehr haben ihre Ursachen in der Zerstörung der Immunkompetenten Zellen. Die strahlenempfindlichsten Blutzellen sind die Lymphozyten (Jacobsen 1954), wobei B- Lymphozyten weitaus labiler sind als T- Lymphozyten (Katz et al. 1970); Plasmazellen hingegen weisen eine ziemlich große Strahlenresistenz auf (Kennedy et al. 1965). Immunglobuline, die zum Zeitpunkt der Bestrahlung bereits vorhanden sind, sind nahezu strahlenunempfindlich (Rosse et al. 1967).

Die Adaptationsphase in der Immunantwort eines Organismus wird durch Bestrahlung sehr stark, die Induktionsphase weniger stark, und die Produktionsphase der Antikörper am geringsten beeinträchtigt.

Abschließend sei nochmals erwähnt, daß sich die schädigende Wirkung von Neutronenbestrahlung auf das Immunsystem tiefgreifender auswirkt, als die der Gamma- und Röntgenbestrahlung bei gleicher Strahlendosis, wobei die Art der Schädigung die gleiche ist.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material

3.1.1. Staphylokokken- Enterotoxin- B zur parenteralen Immunisierung

Lyophilisiertes SEB wurde in 0,9% iger Kochsalzlösung aufgelöst und auf 120 µg/ml eingestellt und zu gleichen Teilen mit komplettem Freundschem Adjuvans vermischt. Jedes Tier erhielt eine subcutane Injektion von 100 µg SEB und 0,5 ml Adjuvans.

3.1.2. Versuchstiere

Für die Versuche wurden Kaninchen der Rasse Chinchilla- Bastarde, männlich, Anfangsgewicht ca. 2 kg, verwendet. Sie stammten aus der Zucht der Firma Ivanovas, Kißlegg.

Die Haltung der Tiere erfolgte in Einzelkäfigen auf Heueinstreu, die Fütterung bestand aus pelletiertem Fertigfutter und Wasser, beides ad libitum.

3.1.3. Reagenzien

Reagenzien für Agar- Gel- Präzipitation (Microslide):

Diäthylbarbiturat- Azetat- Puffer, pH 8,2: 0,1 mol/l Na- Diäthylbarbiturat

Na- Azetat
0,1 mol/l HCL oder 0,1 mol/l NaOH zur pH-Einstellung
50 ml Puffer
50 ml H_2O
Agarose 1% ig

Reagenzien für den RIA:

Na-J^{125} (Behringwerke AG, Marburg)	1 mCi
Staphylokokken- Enterotoxin-B	50 µg in 0,1 ml Puffer B gelöst
Normalserum vom Kaninchen	
Bovines Serum Albumin = BSA (Behringwerke Marburg)	1 g in 20 ml Puffer C
Chloramin T (Fa. Merck, Darmstadt)	50 µg in 10 ml Puffer B
$Na_2S_2O_5$ (Fa. Merck, Darmstadt)	12 µg in 42 ml Puffer B
Sephadex G-50 fine (Fa. Pharmacia, Freiburg)	mit Puffer B ansetzen
Norit (Fa. Serva, Heidelberg)	4 g } in 1l
Dextran (Fa. Serva, Heidelberg)	4 g } Puffer B

Na- Phosphat- Puffer:
A: 0,5 mol/l,pH 7,5
B: 0,05 mol/l,pH 7,5
C: 0,005 mol/l,pH 7,5 mit 0,01% NaN_3
Säule 10 x 1 cm
Säulenvorbereitung:
0,4 ml BSA auftragen, mit 20 ml Puffer B eluieren

3.1.4. Strahlenquelle

Die Bestrahlung der Versuchstiere erfolgte im Forschungsreaktor der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung in München- Neuherberg. Der Reaktor ist vom Typ "TRIGA MARK III" mit einer stündlichen Leistung von 5 kW.

Die mittlere Dosisleistung für die Neutronendosis betrug 15,5 rd/ min., für die Gammastrahlendosis 3,25 rd/ min..
Als Absorber für den Gammastrahlenanteil war zwischen Reaktorkern und Bestrahlungsposition eine 10 cm dicke Bleiwand installiert.
Die Neutronendosis wurde mit dem Zweikammermeßverfahren, die Gammastrahlendosis mit einer Magnesium- Argon- Ionisationskammer bestimmt.
Die Strahlung setzte sich aus 90% Neutronenstrahlung und 10% Gammastrahlung zusammen.
Die Bestrahlung fand in einem sogenannten Trockenbestrahlungsraum von 90 m^2 Größe statt.
Die Neutronenstrahlen wurden in einer Sb-Be-Neutronenquelle erzeugt.

3.2. Versuchsdurchführung

3.2.1. Gruppeneinteilung der Versuchstiere

Entsprechend den Bestrahlungsdosen von 200 rad und 300 rad wurden die Kaninchen in zwei Abteilungen zu je 20 Tieren geteilt. Jede der beiden Abteilungen wurde in sechs Gruppen eingeteilt, die sich durch die Sequenz von Bestrahlung und Immunisierung unterschieden.

Gruppe I : Bestrahlung $\xrightarrow{1d}$ Immunisierung

Kan.- Nr. 20 301 - 304 (200 rad)
30 401 - 404 (300 rad)

Gruppe II : Immunisierung $\xrightarrow{1d}$ Bestrahlung

20 201 - 204 (200 rad)
30 201 - 204 (300 rad)

Gruppe III : Imm. $\xrightarrow{1d}$ Bestr. $\xrightarrow{7d}$ Re- Imm.

20 101 - 104 (200 rad)
30 101 - 104 (300 rad)

Gruppe IV : Imm. $\xrightarrow{7d}$ Re- Imm. $\xrightarrow{1d}$ Bestr.

20 401 - 404 (200 rad)
30 301 - 304 (300 rad)

Gruppe V : Imm., unbestrahlt, Kontrolle zu I u. II

20 601 - 604
30 501 - 502

Gruppe VI : Imm. $\xrightarrow{7d}$ Re- Imm., unbestrahlt, Kontr. zu III u. IV

20 501 - 504
30 601 - 602

3.2.2. Blutentnahme

Den Kaninchen wurde vor Versuchsbeginn, eine Woche nach der letzten Immunisierung und weiter in ca. einwöchigem Abstand aus der Ohrvene Blut entnommen.
Sämtliche Blutproben wurden eine Stunde bei 37°C aufbewahrt, danach zentrifugiert und das Serum bei -40°C gelagert.

Das vor Versuchsbeginn gewonnene Kaninchenserum wurde sofort im Microslide- Test auf etwa vorhandene SEB- Antikörper aus früheren Immunreaktionen untersucht, die die Versuchsergebnisse negativ hätten beeinflussen können.

3.2.3. Durchführung der Bestrahlung

Zur Bestrahlung wurden die Kaninchen in Plexiglaskäfigen mit je zwei übereinanderliegenden Einzelboxen untergebracht. Im Trockenbestrahlungsraum des Reaktors wurden die Käfige mit den Tieren auf einer senkrecht zur Bestrahlungsrichtung gestellten Ebene in einem Abstand vom Reaktorkern von 275 cm hinter einer Bleiwand aufgestellt.

Die Strahlendosen von 200 und 300 rad wurden im Inneren der Käfige von Meßdioden registriert.

3.2.4. Antikörpernachweis

Im modifizierten Ouchterlony-' Test und mittels RIA wurden die Antikörper gegen SEB nachgewiesen.

3.2.4.1. Arbeitsanleitung für den Agar- Gel- Präzipitations- Test (Microslide)

Der Microslide wird wie folgt ausgeführt: Objektträger, 76 x 26 mm werden an beiden schmalen Seiten mit wasserfester Folie, 2 cm breit, 1 mm hoch, umwickelt. In das freibleibende Feld wird flüssiger 1%iger Agarose- Agar, in 0,1 m Diäthylbarbiturat- Azetat- Puffer, pH 8,2, pippettiert. Nach Erstarren werden mit einer Lochstanze ein zentrales und sechs periphere Löcher ausgehoben, deren Inhalt ca. 0.004 ml beträgt.
Die Objektträger werden mit Serum im Zentrum und Toxin, in Aqua dest. gelöst, in den peripheren Löchern beschickt und bei +37°C für 15 bis 24 Stunden in der feuchten Kammer belassen. Direkt anschießend erfolgt die Beurteilung über einer Lichtquelle (Einöder 1979).

3.2.4.2. Arbeitsanleitung für den RIA

Markierung von Enterotoxin B mit J^{125}

Die Markierung wurde nach der von Hunter beschriebenen Methode durchgeführt.
Zu dem Na-J^{125} werden 5 µg SEB, 0,01 ml Puffer A, 0,01 ml Chloramin T und 0,086 ml $Na_2S_2O_5$ gegeben. Diese Mischung wird auf die mit BSA vorbehandelte Säule (10x1 cm) aufgetragen und mit Puffer C eluiert. Das Eluat wird in Fraktionen zu je 0,7 ml aufgefangen, denen 0,5 ml BSA-Lösung vorgelegt werden. Die Messung im Szintillationszähler (Fa. Friesecke u. Höpfner, Erlangen) bei großem Abstand ergab eine Bindung

des J^{125} an das Toxin von ca. 80%.

Versuchsanordnung für den RIA

Von den zu untersuchenden Seren wurden mit Puffer B Verdünnungsstufen von 1: 1000, 1: 2000, 1: 4000, 1: 8000, 1: 16000 hergestellt. Als positives Kontrollserum wurde Kaninchen- anti-SEB- Gammaglobulin, als negative Kontrolle Kaninchen- Normalserum der Firma BAG, Lich, verwendet.
Jede Verdünnungsstufe wurde doppelt angesetzt, und die davon gemessenen Werte wurden gemittelt. 0,1 ml der jeweiligen Serumverdünnung, 0,1 ml Puffer C und 0,1 ml des J^{125}-SEB (ca. 280 000 cpm) wurden in verschließbare Polypropylenröhrchen (Fa. Sarstedt, Nümbrecht) eingefüllt.

Der Ansatz wurde zwei Stunden im Wasserbad bei 37°C und 1 Stunde im Eiswasserbad inkubiert; danach erfolgte die Zugabe von 1 ml Kohle-Dextran- Puffer pro Röhrchen als Adsorptionsmittel.
Nach einer ca. 1 stündigen Reaktionszeit bei Zimmertemperatur wurden die Röhrchen zur Sedimentation des Adsorptionsmittels 15 min. lang zentrifugiert. 0,5 ml des Überstandes wurden entnommen und in neue "Bio- Vials" (Fa. Beckmann, München) pipettiert und im Auto- Gamma-Szintillationszähler (Fa. Packard, Zürich) gemessen.
Die Meßwerte jeder Verdünnungsstufe wurden gemittelt und die Aktivität in Prozent der eingesetzten Aktivität errechnet.

Die qualitative Beurteilung der Seren erfolgte am Tage der Blutentnahme mittels Agar-Gel-Präzipitation. Anhand der Präzipitationsbanden war eine Beurteilung der Antikörperreaktion mit positiv, schwach positiv und negativ möglich. Die Ergebnisse des Microslide entsprachen in den meisten Fällen denen des RIA, wobei anzumerken ist, daß aufgrund der großen Empfindlichkeit des RIA noch sehr geringe Mengen an Antikörpern nachweisbar sind.

4. Ergebnisse

4.1. Neutronen-Ganzkörperbestrahlung mit 200 rad

Versuch I

Bestrahlung 24 h vor Immunisierung

Tabelle 1: Ergebnisse Versuch I/200 rad
Antikörpertiter im RIA

Tag nach Erst-immunisierung	Kaninchen- Nr. 20301	20302	20303	20304
6.-24.	neg.	neg.	neg.	neg.
27.	1:2000	neg.	neg.	verstorben
31.	1:2000	neg.	1:1000	
44.	1:8000	neg.	1:2000	
52.	1:8000	1:1000	1:4000	
71.	1:4000	1:2000	1:4000	

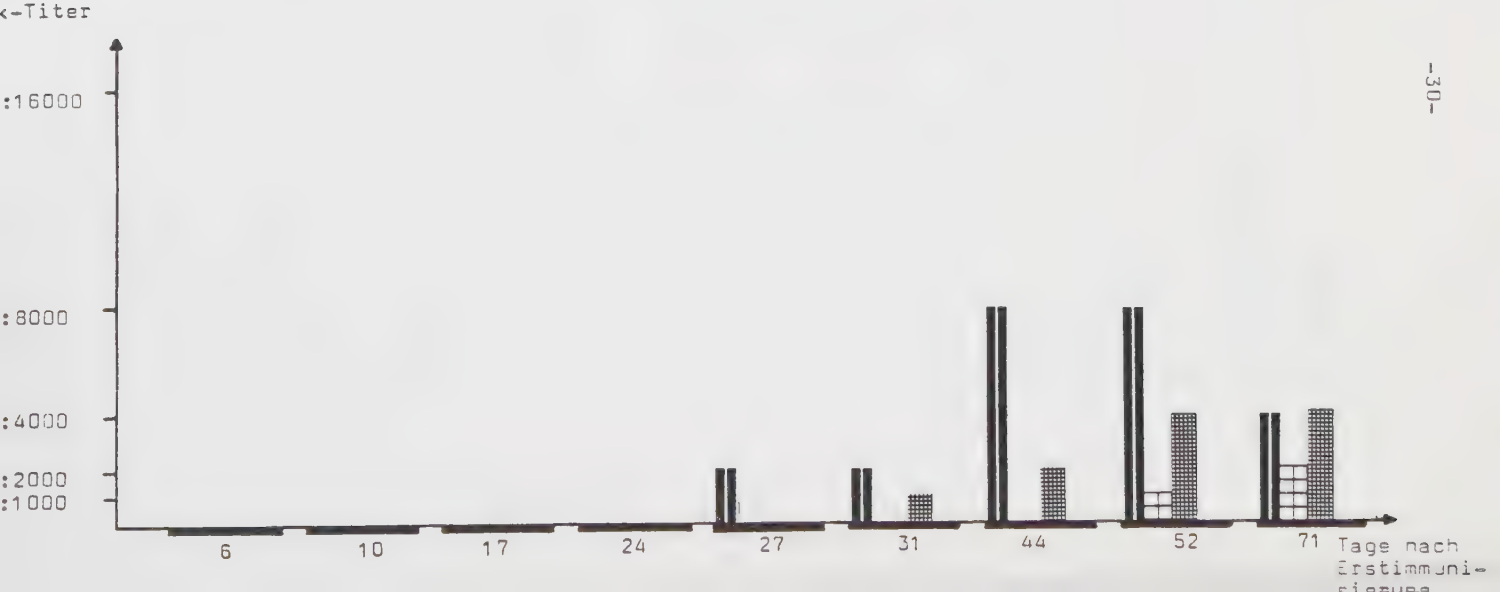
Eine erste Antikörper- Reaktion trat bei Kaninchen- Nr. 20301 am 27. Tage ein, mit einem Titer von 1:2000; dieser erreichte am 44. Tag eine Höhe von 1:8000 und fiel zum Ende der Untersuchung am 71. Tag wieder auf 1:4000. Zwei weitere Tiere reagierten ab 31. bzw. 52. Tag und erreichten bis Versuchsende Titer von 1:2000 bzw. 1:4000.
Kaninchen Nr. 20304 verstarb am 24. Tag nach Immunisierung und blieb bis dahin ohne Reaktion.

Abb. 1

Versuch I

200 rad Neutronenbestrahlung

Bestrahlung $\frac{1d}{}$ Immunisierung



Versuch II

Bestrahlung 24 h nach Immunisierung

Tabelle 2: Ergebnisse Versuch II/200 rad
Antikörpertiter im RIA

Tag nach Erst-immunisierung	Kaninchen- Nr. 20201	20202	20203	20204
6.	neg.	neg.	neg.	neg.
10.	1:1000	neg.	neg.	neg.
17.	1:1000	neg.	neg.	1:1000
24.	neg.	neg.	neg.	1:1000
27.	neg.	1:1000	neg.	1:1000
31.	1:1000	1:8000	neg.	1:1000
44.	1:1000	1:8000	1:1000	1:4000
52.	1:1000	1:8000	1:1000	1:8000
71.	1:4000	1:8000	1:4000	1:8000

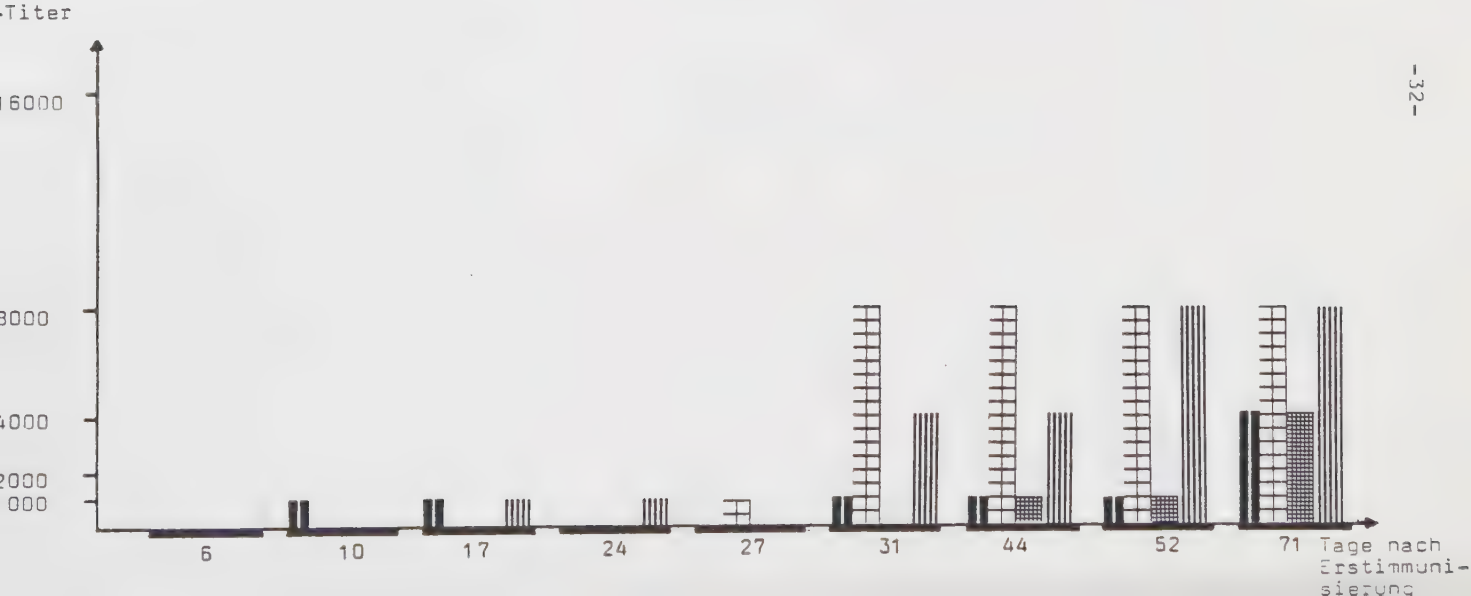
Die erste Antikörper- Reaktion mit 1:1000 erfolgte am 10. Tag bei Kaninchen-Nr. 20201, die am 24. Tag wieder verschwand, am 31. Tag wieder 1:1000 betrug und bis Versuchsende 1:4000 erreichte. Zwei weitere Tiere zeigten ab 17. bzw. 27. Tag Titer von 1:1000, die beide bis zum 71. Tag auf 1:8000 anstiegen. Das dritte Kaninchen der Gruppe reagierte erstmals am 44. Tag nach Immunisierung (1:1000) und erreichte bis Versuchsende einen Titer von 1:4000.

Abb. 2

Versuch II

200 rad Neutronenbestrahlung

Immunisierung $\frac{1d}{}$ Bestrahlung



Kontrollgruppe zu Versuch I und II

Immunisierung; unbestrahlt

Tabelle 3: Ergebnisse Kontrollgruppe zu Vers. I u. II
Antikörpertiter im RIA

Tag nach Erst-immunisierung	Kaninchen- Nr. 20601	20602	20603	20604
6.-17.	neg.	neg.	neg.	neg.
24.	1:1000	1:2000	1:1000	1:2000
27.	1:1000	1:4000	1:1000	1:4000
31.	1:2000	1:4000	1:2000	1:4000
44.	1:4000	1:8000	1:4000	1:4000
52.	1:4000	1:8000	1:8000	1:8000
71.	1:8000	1:8000	1:4000	1:8000

Hier reagierten drei Tiere am 24. Tag mit Titern von 1:1000 bzw. 1:2000. Alle Kaninchen erreichten ab 44. Tag einen Antikörper- Titer von 1:8000, der nur bei einem Tier am 71. Tag auf 1:4000 abfiel.

Abb. 3

Kontrollgruppe zu I u. II

unbestrahlt

Immunisierung

Versuch III

Bestrahlung 24 h nach Immunisierung, nach 7 Tagen Reimmunisierung

Tabelle 4: Ergebnisse Versuch III/200 rad
Antikörpertiter im RIA

Tag nach Erst-immunisierung	Kaninchn-Nr. 20101	20102	20103	20104
6.-10.	neg.	neg.	neg.	neg.
17.	1:8000	1:8000	1:8000	1:8000
24.	1:2000	1:2000	1:4000	1:4000
27.	1:4000	1:4000	1:4000	1:8000
31.	1:2000	1:4000	1:4000	1:8000
52.	1:8000	1:8000	1:8000	1:8000
71.	1:4000	1:8000	1:4000	1:4000

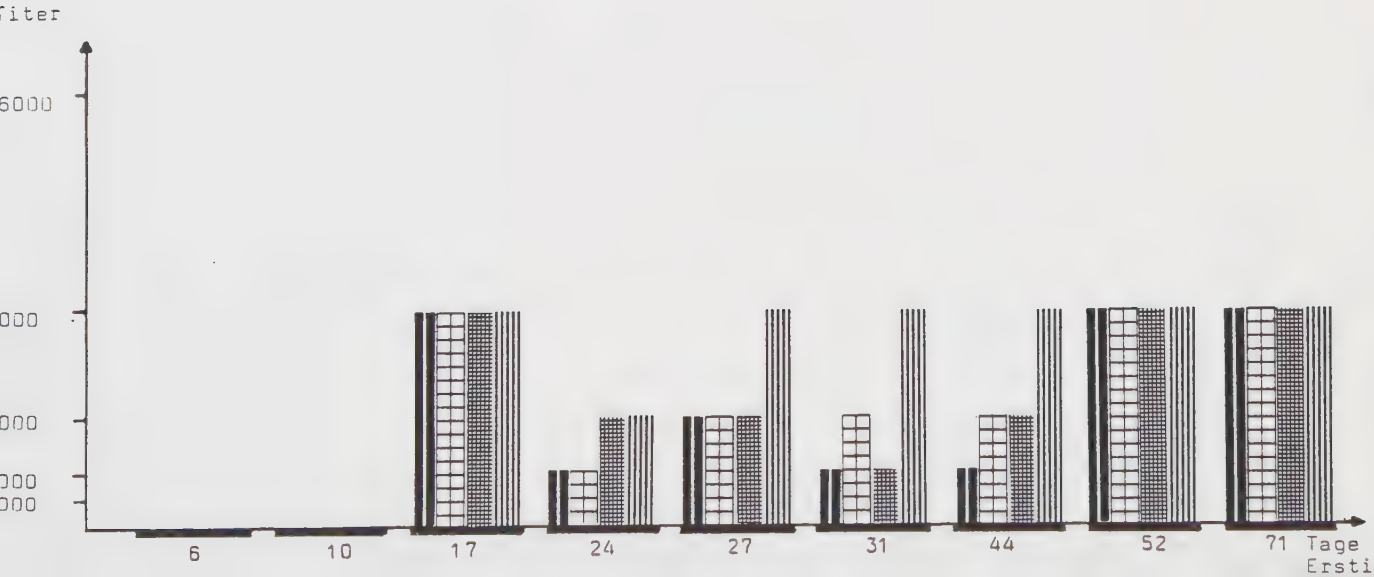
In dieser Gruppe reagierten alle 4 Kaninchen ab 17. Tag mit Titern von 1:8000, die dann 7 Tage später bei jeweils 2 Tieren auf 1:4000 bzw. 1:2000 abfielen; bis zum 52. Tag erreichten alle Tiere mit langsamen Titeranstieg wieder Werte von 1:8000, die am 71. Tag beim dritten und vierten Tier auf 1:4000 absanken.

Abb. 4

Versuch III

200 rad Neutronenbestrahlung

Immunisierung $\frac{1d}{}$ Bestrahlung $\frac{6d}{}$
Re-Immunisierung



Versuch IV

Immunisierung, nach 7 Tagen Reimmunisierung, 24 h später Bestrahlung

Tabelle 5: Ergebnisse Versuch IV/200 rad
Antikörpertiter im RIA

Tag nach Erst-immunisierung	Kaninchen- Nr. 20401	20402	20403	20404
6.-17.	neg.	neg.	neg.	neg.
24.	1:4000	1:4000	1:1000	1:8000
27.	1:4000	1:8000	1:2000	1:8000
31.	1:4000	1:16000	1:2000	1:4000
44.	1:8000	1:16000	1:8000	1:8000
52.	1:16000	1:16000	1:8000	1:16000
71.	1:16000	1:16000	1:8000	1:16000

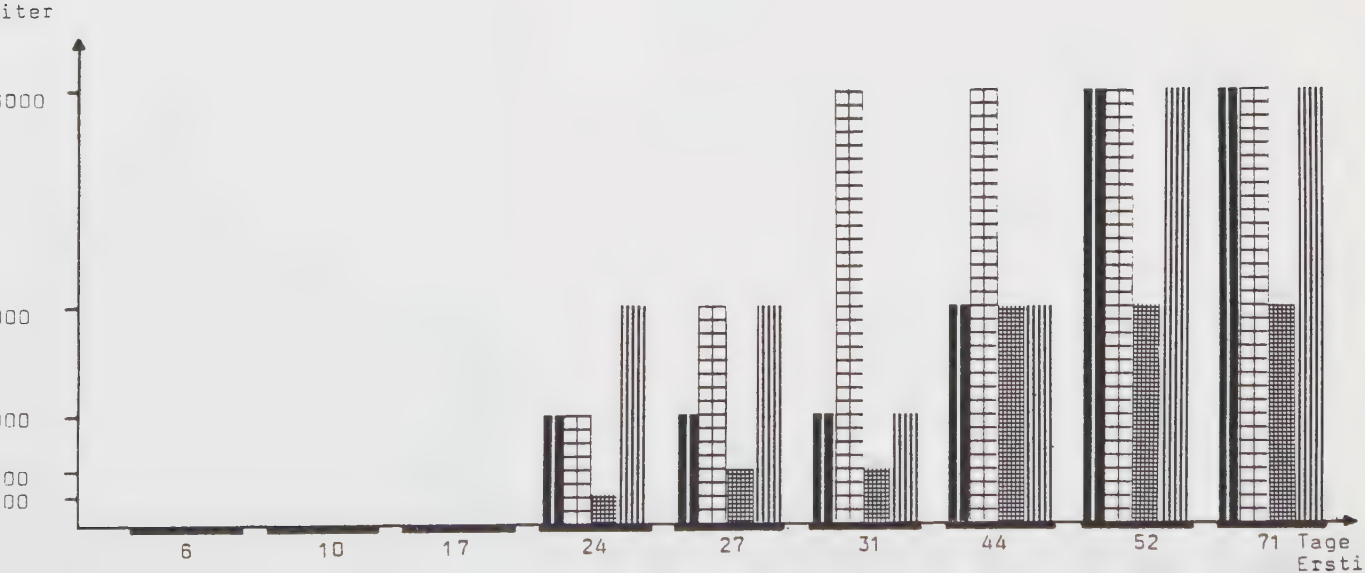
Ab 24. Tag war bei allen vier Kaninchen erstmals eine Antikörper- Reaktion vorhanden (1:1000, 1:4000 und 1:8000). Ein Tier erlitt am 31. Tag einen Titerrückgang von 1:8000 auf 1:4000, während ein weiteres die Stufe von 1:16000 erreichte und bis Ende der Untersuchungen beibehielt. Am 44. Tag war bei 3 Tieren der Titer bei 1:8000 angelangt, wobei zwei der Tiere 8 Tage später 1:16000 erreichten und auf dieser Stufe blieben, während das dritte den Titer von 1:8000 bis Ende beibehielt.

Abb. 5

Versuch IV

200 rad Neutronenbestrahlung

Immunisierung —7d— Re-Immunisierung —1d—
Bestrahlung



Kontrollgruppe zu Versuch III und IV

Immunisierung, nach 7 Tagen Reimmunisierung; unbestrahlt

Tabelle 6: Ergebnisse Kontrollgruppe zu III u. IV Antikörper im RIA

Tag nach Erst-immunisierung	Kaninchen- Nr. 20501	20502	20503	20504
6.-24.	neg.	neg.	neg.	neg.
27.	1:1000	1:16000	1:8000	1:16000
31.	1:2000	1:8000	1:8000	1:8000
44.	1:8000	1:8000	1:16000	1:16000
52.	1:8000	1:16000	1:16000	1:16000
71.	1:8000	1:16000	1:16000	1:16000

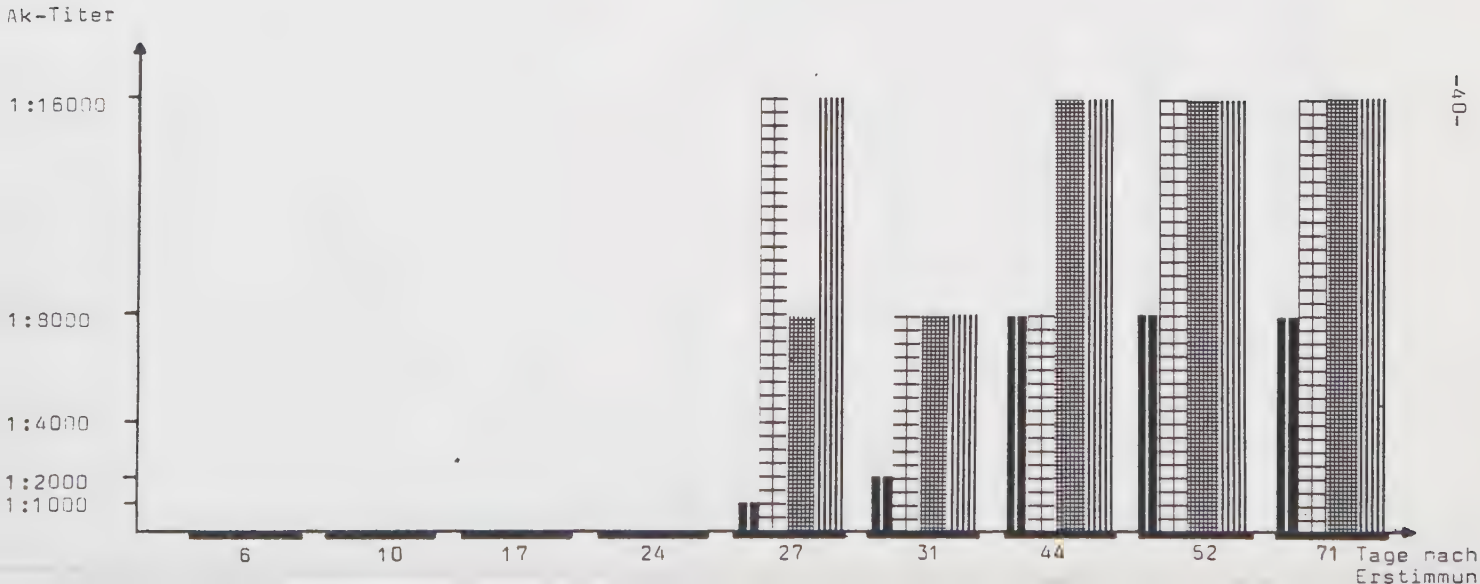
Hier erfolgte eine erste Immunantwort ab 27. Tag bei allen 4 Tieren, wobei 2 Tiere gleich auf einen Titer von 1:16000, eines auf 1:8000 und eines auf 1:1000 anstiegen. Letzteres erreichte ab 44. Tag 1:8000 und blieb bis Versuchsende auf dieser Verdünnungsstufe. Die drei anderen Kaninchen erreichten ab 52. Tag Titer von 1:16000, die bis Ende bestehen blieben.

Abb. 6

Kontrollgruppe zu III u. IV

unbestrahlt

Immunisierung $\frac{7d}{}$ Re-Immunisierung



4.2. Neutronen-Ganzkörperbestrahlung mit 300 rad

Versuch I

Bestrahlung 24 h vor Immunisierung

Tabelle 7: Ergebnisse Versuch I/300 rad
Antikörpertiter im RIA

Tag nach Erst-immunisierung	Kaninchen- Nr. 30401	30402	30403	30404
6.-17.	neg.	neg.	neg.	neg.
24.	1:1000	1:1000	1:2000	neg.
27.	1:2000	1:2000	1:4000	1:1000
31.	1:4000	1:4000	1:4000	1:4000
44.	1:8000	1:4000	1:8000	1:8000
52.	1:8000	1:8000	1:8000	1:4000
71.	1:8000	1:8000	1:8000	1:8000

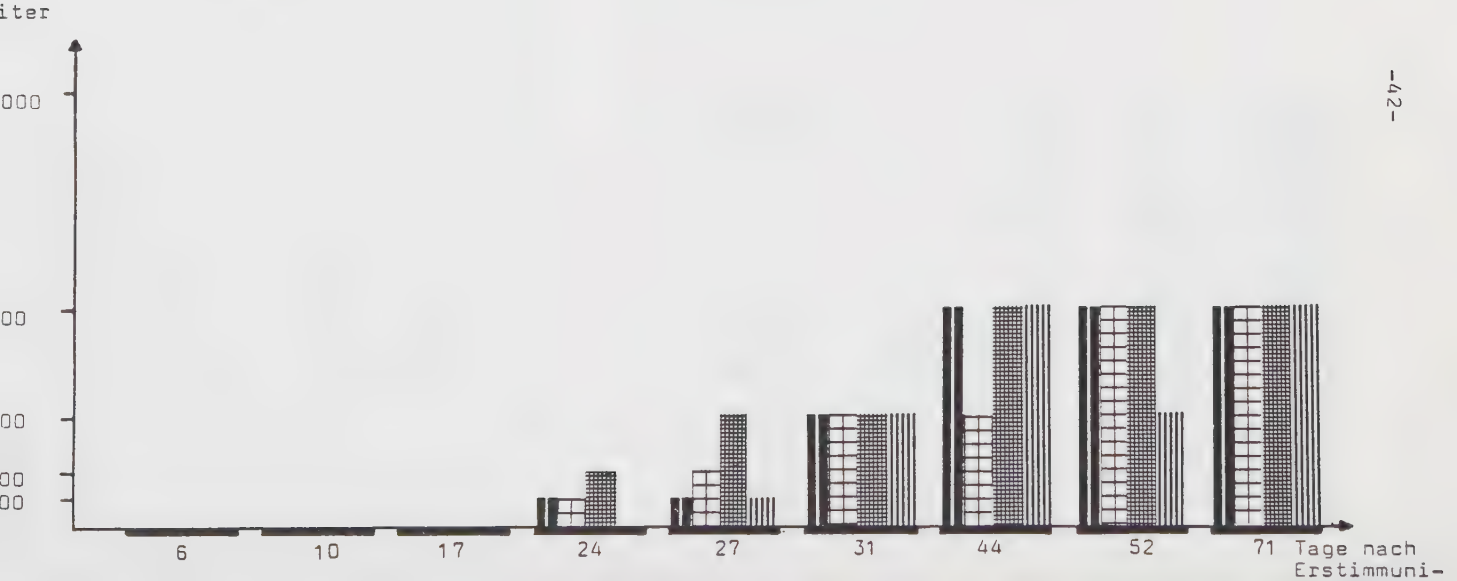
Am 24. Tag nach Immunisierung reagierten drei Tiere schwach positiv (1:1000 und 1:2000), das vierte Kaninchen folgte 3 Tage später mit einem Titer von 1:1000. Alle vier Probanden erreichten bis zum Ende des Versuchszeitraumes am 71. Tag nach kontinuierlichem Anstieg Antikörpertiter von 1:8000.

Abb. 7

Versuch I

300 rad Neutronenbestrahlung

Bestrahlung $\frac{1d}{}$ Immunisierung



Versuch II

Bestrahlung 24 h nach Immunisierung.

Tabelle 8: Ergebnisse Versuch II/300 rad
Antikörper im RIA

Tag nach Erst-immunisierung	Kaninchen- Nr. 30201	30202	30203	30204
6.-17.	verstor-ben	neg.	neg.	neg.
24.		1:2000	neg.	1:1000
27.		1:4000	1:2000	1:1000
31.		1:8000	1:4000	1:1000
44.		1:8000	1:8000	1:4000
52.		1:16000	1:16000	1:8000
71.		1:16000	1:16000	1:16000

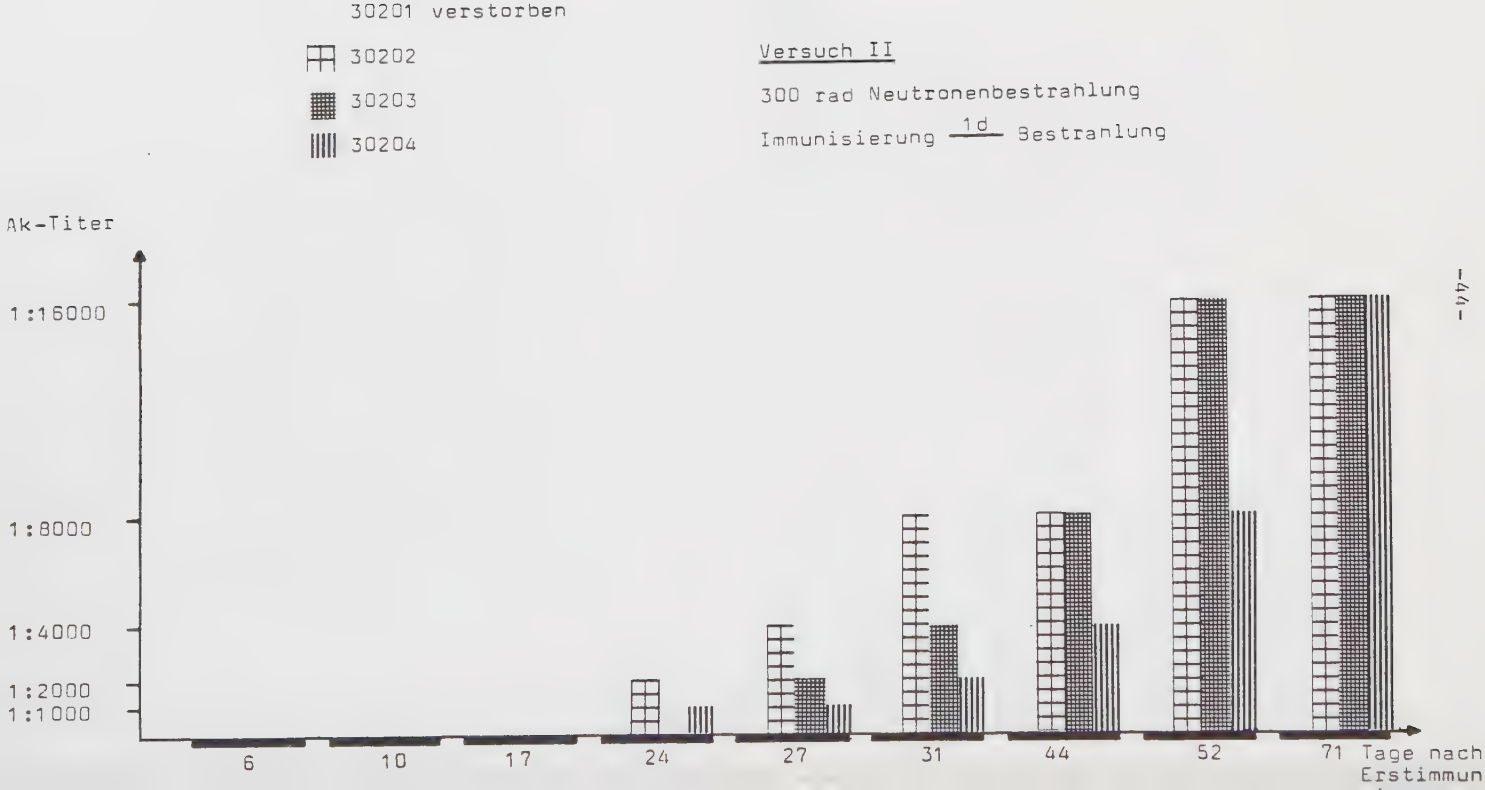
Kaninchen- Nr. 30201 starb kurz nach der Bestrahlung ohne Antikörper- Reaktion. Am 24. Tag waren bei zwei Tieren Antikörpertiter nachweisbar (1:1000 und 1:2000), das vierte Tier der Gruppe hatte am 27. Tag einen Titer von 1:1000. Auch hier stiegen bei allen drei verbliebenen Kaninchen die Werte der Antikörper- Reaktion bis Ende der Untersuchung kontinuierlich an, allerdings erreichten sie diesmal am 71. Tag eine Verdünnungsstufe von 1:16000.

Abb. 8

Versuch II

300 rad Neutronenbestrahlung

Immunisierung $\frac{1d}{}$ Bestranlung



Kontrollgruppe zu Versuch I und II

Immunisierung; unbestrahlt

Tabelle 9: Ergebnisse Kontrollgruppe zu Vers. I u. II
Antikörper im RIA

Tag nach Erst-immunisierung	Kaninchen- Nr. 30501	30502
6.	1:1000	neg.
10.	1:1000	neg.
17.	1:2000	1:2000
24.	1:4000	1:4000
27.	1:8000	1:4000
31.	1:16000	1:4000
44.	1:16000	1:8000
52.	1:16000	1:8000
71.	1:16000	1:8000

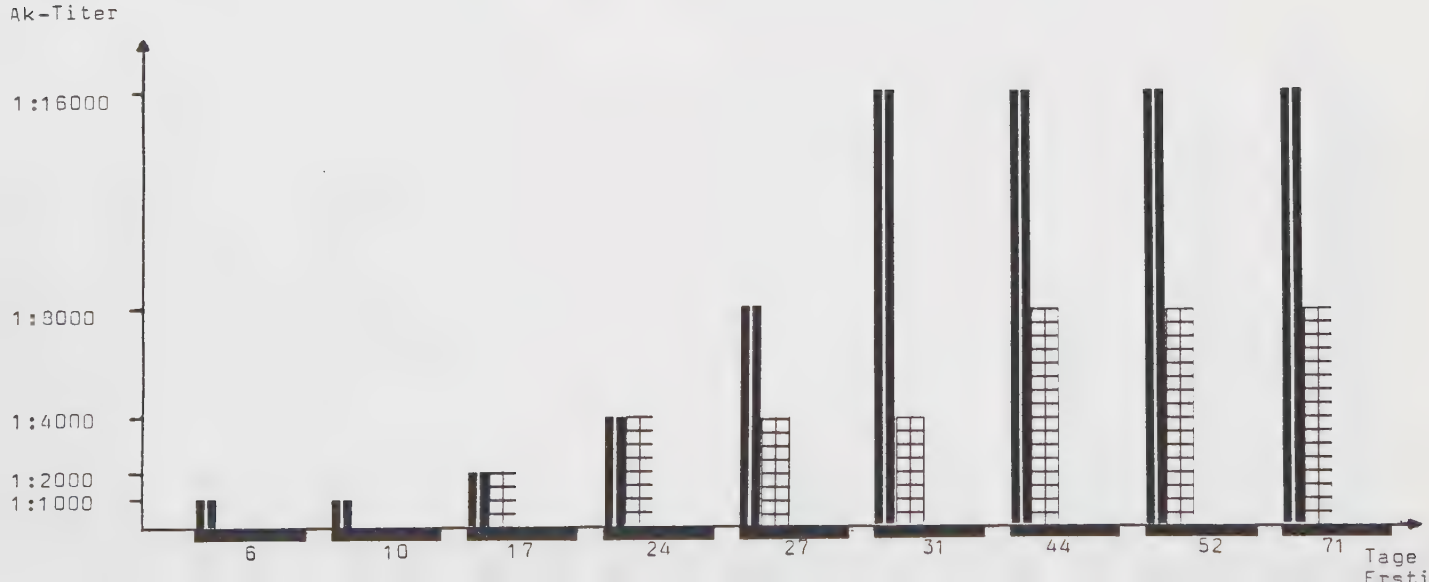
Eine schwach- positive Antikörper- Reaktion erfolgte bereits am 6. Tag nach Immunisierung bei einem Tier, das zweite zeigte am 17. Tag einen Titer von 1:2000; ab 44. Tag erreichten beide Kaninchen Antikörper- Titer von 1:16000 bzw. 1:8000, die sie bis Versuchsende beibehielten.

Abb. 9

Kontrollgruppe zu I u. II

unbestrahlt

Immunisierung



Versuch III

Immunisierung, nach 24 h Bestrahlung, nach 7 Tagen Reimmunisierung

Tabelle 10: Ergebnisse Versuch III/300 rad
Antikörpertiter im RIA

Tag nach Erst-immunisierung	Kaninchen- Nr. 30101	30102	30103	30104
6.-10.	neg.	verstor-ben	neg.	neg.
17.	neg.		neg.	1:2000
24.	1:2000		1:4000	1:4000
27.	1:4000		1:8000	1:4000
31.	1:4000		1:16000	1:8000
44.	1:8000		1:16000	1:16000
52.	1:8000		1:16000	1:16000
71.	1:8000		1:16000	1:16000

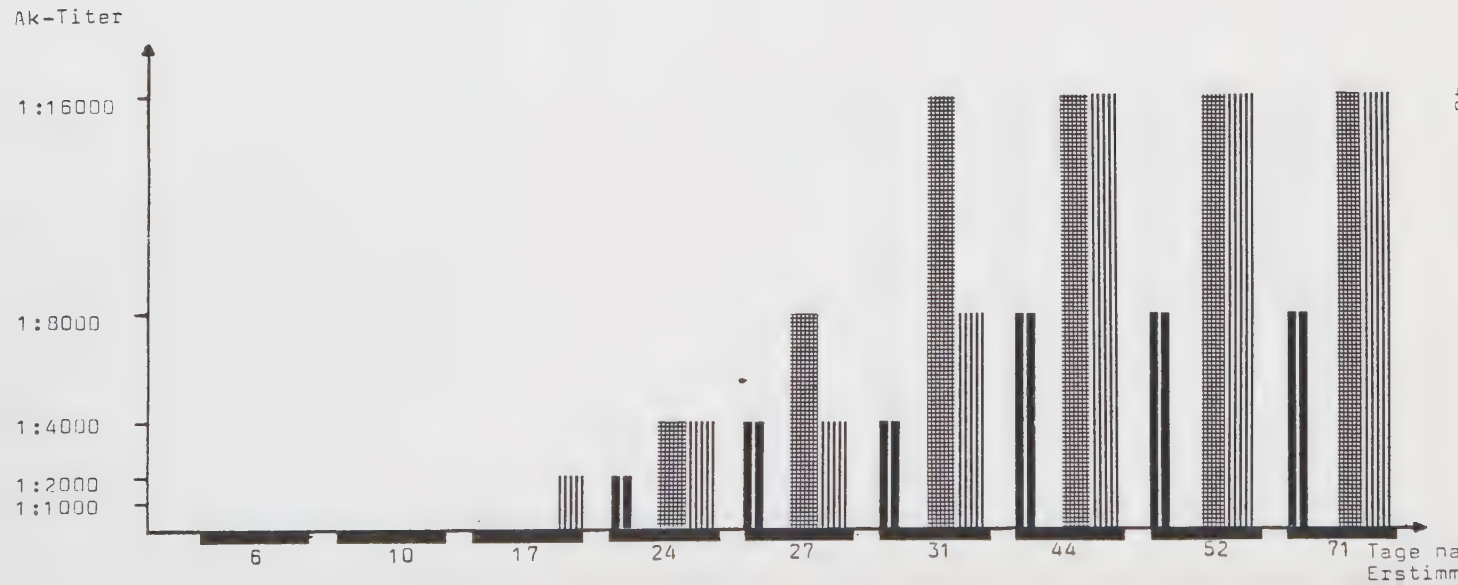
In diesem Versuch war ein Proband am 17. Tag mit 1:2000 positiv; zwei weitere folgten 7 Tage später mit 1:2000 bzw. 1:4000. Ab 27. Tag erreichte ein Kaninchen einen Wert von 1:8000, die übrigen von 1:4000. Ab 44. Tag hatten zwei Tiere Antikörper- Titer von 1:16000, das dritte von 1:8000 erreicht; diese Werte persistierten bis Versuchsende.
Kaninchen 30102 verstarb nach der zweiten Blutentnahme, ohne bis dahin eine Antikörper-Reaktion zu zeigen.

Abb. 10

Versuch III

300 rad Neutronenbestrahlung

Immunisierung —1d— Bestrahlung —7d—
Re-Immunisierung



Versuch IV

Immunisierung, nach 7 Tagen Reimmunisierung, nach 32 Tagen Bestrahlung

Hierzu ist zu sagen, daß die Bestrahlung der Versuchstiere dieser Gruppe wegen eines technischen Defekts im Forschungsreaktor erst zu diesem wesentlich späteren Zeitpunkt erfolgen konnte, als vorgesehen, nämlich 24 h nach der Reimmunisierung.

Tabelle 11: Ergebnisse Versuch IV/300 rad
Antikörpertiter im RIA

Tag nach Erstimmunisierung	Kaninchen- Nr. 30301	30302	30303	30304
6.-10.	neg.	neg.	neg.	neg.
17.	neg.	1:4000	1:2000	neg.
24.	1:1000	1:16000	1:4000	1:1000
27.	1:1000	1:16000	1:8000	1:2000
31.	1:8000	1:16000	1:16000	1:4000
44.	1:8000	1:4000	1:16000	1:8000
52.	1:8000	1:16000	1:16000	1:8000
71.	1:8000	1:16000	1:16000	1:8000

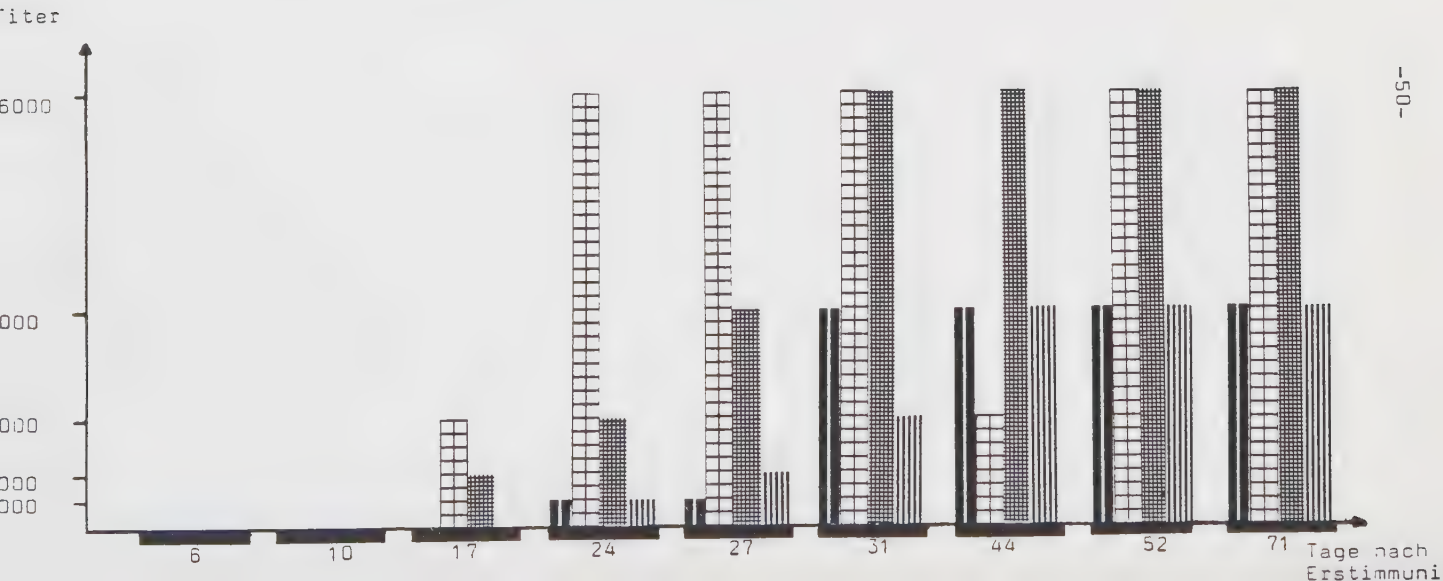
In dieser Gruppe traten die ersten positiven Reaktionen 17 Tage nach Immunisierung auf (1:2000 und 1:4000). 7 Tage später waren alle vier Probanden positiv, wobei von einem Tier bereits ein Antikörper- Titer von 1:16000 erreicht wurde. Dieses Kaninchen hatte am 44. Tag einen deutlichen Antikörper- Rückgang um 2 Stufen auf 1:4000, der 8 Tage später wieder auf die ursprüngliche Höhe anstieg. Ab 52. Tag hatten 2 Tiere Titer von 1:8000, die anderen von 1:16000, die alle bis Ende des Versuchs bestehen blieben.

Abb. 11

Versuch IV

300 rad Neutronenbestrahlung

Immunisierung —7d— Re-Immunisierung —25d—
Bestrahlung



Kontrollgruppe zu Versuch III und IV

Immunisierung, nach 7 Tagen Reimmunisierung; unbestrahlt

Tabelle 12: Ergebnisse Kontrollgruppe zu Vers. III u. IV
Antikörpertiter im RIA

Tag nach Erst-immunisierung	Kaninchen- Nr. 30601	30602
6.	neg.	neg.
10.	1:1000	neg.
17.	1:1000	1:1000
24.	1:4000	1:2000
27.	1:4000	1:8000
31.	1:4000	1:8000
44.	1:8000	1:8000
52.	1:8000	1:16000
71.	1:8000	1:16000

Am 10. Tag zeigte sich eine erste Reaktion von 1:1000 eines Tieres, das zweite folgte sieben Tage später. Letzteres hatte im weiteren Verlauf einen kontinuierlichen Titeranstieg bis 1:16000 am 52. Tag nach Erstimmunisierung, der in dieser Höhe bestehen blieb. Das andere Kaninchen der Gruppe erreichte bis zum 44. Tag einen Antikörper- Wert von 1:8000, und behielt diesen bis zum Ende der Untersuchung bei.

Abb. 12

Kontrollgruppe zu III u. IV

unbestrahlt

Immunisierung —— Re-Immunisierung

5. Besprechung der Ergebnisse

5.1. Einfluß einer Neutronen- Gamma- Mischbestrahlung von 200 und 300 rad auf die Bildung von primären Antikörpern gegen SEB (Versuche I und II/ 200 und 300 rad)

5.1.1. Bestrahlung mit 200 rad

Die mit Adjuvans durchgeführten Immunisierungen führten sowohl bei den mit 200 rad bestrahlten als auch bei den unbestrahlten Kaninchen relativ spät zu einer Antikörper- Reaktion (24.bzw. 27. Tag). Die Tiere der Gruppen I und II (200 rad Bestrahlung), als auch deren Kontrolltiere erreichten Antikörper- Titer von maximal 1:8000, wobei nur ein Proband der Gruppe I auf diese Stufe kam und am Ende der Untersuchung wieder auf 1:4000 abfiel.

Im Vergleich zu Gruppe II lagen die Antikörper-Titer der Gruppe I am Versuchsende um durchschnittlich eine Verdünnungsstufe niedriger; zwar stiegen auch in der unbestrahlten Kontrollgruppe die Titer nur bis 1:8000, aber immerhin erreichte ab 52. Tag jedes Tier der Gruppe diese Stufe.

Die ersten Antikörper- Reaktionen zeigten sich auch bei den unbestrahlten Kaninchen erst ab 24. Tag nach Immunisierung, jedoch reagierten alle vier Tiere bereits mit Titern von 1:1000 und 1:2000, wohingegen in Gruppe I nur ein Tier am 27. Tag, in Gruppe II ebenfalls nur

eines, jedoch bereits am 10. Tag eine erste Reaktion aufwies.

Zwar erreichten die Kontrolltiere nicht die erwartet höheren Antikörper- Titer, als die mit 200 rad bestrahlten, aber die verzögerten Immunantworten der bestrahlten Tiere zeigen dennoch eine depressive Wirkung der Strahlung sowohl in Versuch I als auch in Versuch II.

5.1.2. Bestrahlung mit 300 rad

Auch hier waren bei den bestrahlten Tieren der Gruppen I und II erst nach 24 Tagen schwache Antikörper- Titer nachweisbar, während von den unbestrahlten eines bereits nach 6 Tagen, das zweite nach 17 Tagen eine Immunreaktion aufwies.

Die Versuche I und II zeigen die immunsuppressive Wirkung der Neutronenstrahlen bei einer Dosis von 300 rad noch ausgeprägter, als nach 200 rad- Bestrahlung. Die Tiere beider Gruppen reagierten später als die Kontrolltiere auf das Antigen, jedoch stiegen die Titer der ersten Gruppe bis Versuchsende nur auf 1:8000, während die der zweiten Gruppe um eine Verdünnungsstufe höher lagen und somit am Ende sogar ein einheitlicheres Bild aufwiesen, als die unbestrahlten Tiere.

5.1.3. Einfluß des Bestrahlungszeitpunktes auf die Antikörperbildung

Die Ergebnisse aus Versuch I und II (200 rad und 300 rad) sind folgendermaßen zu interpretieren:

1. Bestrahlung mit 200 und 300 rad 24 h vor Antigengabe bewirkt eine deutlichere Immunsuppression als Bestrahlung 24 h danach.
2. Radiosensibles lymphoides Gewebe erholt sich von einer 24 h nach Immunisierung erfolgten Bestrahlung schneller, als von einer Bestrahlung 24 h vor der Antigengabe, was sich in einem früheren Anstieg der Antikörpertiter zeigt.
3. Die strahlensensibelste Phase des immunkompetenten Gewebes liegt in der Zeit vor der Antigengabe, d.h. die Wirkung einer Bestrahlung vor der Immunisierung trifft das undifferenzierte lymphatische Gewebe zu einem Zeitpunkt, da dieses im Begriff ist, die für die Antikörperbildung zuständigen Zellen zu mobilisieren und zu differenzieren, während eine Strahlenexposition 24 h nach Antigengabe bereits in den Beginn der weniger radiosensiblen Induktions- und Produktionsphase der Immunantwort hineinfällt. Eine Differenzierung von Lymphozyten hat zu diesem Zeitpunkt bereits begonnen, sodaß trotz Schädigung noch nicht geprägter Immunzellen eine anamnestische Reaktion des immunkompetenten Gewebes und die Bildung genügend hoher Antikörpermengen, wenn auch verzögert, doch möglich ist.

Es überschneiden sich bei einer Bestrahlung nach der Antigengabe die Latenzzeit der Strahlenwirkung und die bereits angelaufene Antikörperproduktion, d.h. ehe sich die schädigende Wirkung der Neutronenstrahlen entfalten kann, haben sich die vorher nicht stimulierten und strahlenempfindlicheren Lymphozyten bereits in antikörperbildende Plasmazellen differenziert, die nach Kennedy et al. (1965) eine relativ hohe Strahlenresistenz besitzen.

Die Ergebnisse der Versuche I und II bestätigen die für direkt ionisierende Strahlen, wie Gamma- und Röntgenstrahlen, gewonnenen Erkenntnisse auch im Falle der indirekt ionisierenden Neutronenstrahlen, daß nämlich der Effekt der Bestrahlung auf die Antikörperproduktion mit der zeitlichen Beziehung zwischen Strahleneinwirkung und Antigengabe variiert, d.h. eine wirksame Unterdrückung der Reaktion auf ein Antigen geschieht durch Bestrahlung vor Antigenverabreichung; die Immunsuppression ist zwischen 24 und 48 h vor dem Antigenkontakt am größten (Latenzzeit der Strahlenwirkung) (Dixon et al. 1952).

5.2. Einfluß einer Neutronen- Gamma- Mischbestrahlung von 200 und 300 rad auf die Bildung von sekundären Antikörpern gegen SEB (Versuche III und IV/ 200 und 300 rad)

5.2.1. Bestrahlung mit 200 rad

Versuch III und IV zeigen deutlich den Unterschied in der Wirkung einer Bestrahlung vor bzw. nach der Sekundärimmunisierung. In Gruppe III wurde die Antikörperbildung auf die Erstimmunisierung durch die Bestrahlung nicht beeinflußt. Aber die Bildung sekundärer Antikörper erfuhr am 24. Tage durch die 6 Tage vor der Reimmunisierung erfolgte Neutronenbestrahlung eine sichtliche Depression, die jedoch bis zum 52. Tag wieder kompensiert werden konnte; bis zum Ende der Untersuchung hatten dann alle Tiere dieser Gruppe einheitlich hohe Titer von 1:8000.

Der Vergleich mit Gruppe IV und der Kontrollgruppe zeigt jedoch, daß eine Bestrahlung 24 Std. nach Reimmunisierung keinen negativen Effekt auf die Bildung sekundärer Antikörper mehr hat. Dies zeigen die Werte dieser Versuchsgruppe, die mit 1:16000 als Höchstwert um eine Verdünnungsstufe höher liegen als in Gruppe III und mit denen der unbestrahlten Kontrolltiere nahezu gleich sind.

5.2.2. Bestrahlung mit 300 rad

Die Ergebnisse der dritten Versuchsgruppe weisen ebenfalls auf eine leichte Beeinträchtigung der Booster- Reaktion hin. Jedoch zeigt sich hier deutlicher die Auswirkung der Erholungsphase zwischen Bestrahlung und nachfolgender Reimmunisierung nach 6 Tagen. Die Kaninchen erreichten höhere Antikörperkonzentrationen als die der Gruppe III/200 rad.

Versuch IV zeigt, daß die durch einen technischen Defekt bedingte verspätete Neutronenbestrahlung am 32. Tag keinerlei Einfluß auf die sekundäre Immunantwort hat, da bereits bestehende Antikörper gegenüber ionisierenden Strahlen dieser Dosis unempfindlich sind. Es ist anzunehmen, daß eine Bestrahlung 24 h nach Reimmunisierung allenfalls das Erreichen der maximalen Antikörpertiter um einige Tage verschoben hätte. Die im Vergleich mit den unbestrahlten Tieren gleichwertigen Titer sprechen für eine durch die Strahlung unbeeinflußt abgelaufene Immunreaktion.

5.2.3. Auswirkungen auf die Bildung sekundärer Antikörper durch Bestrahlung vor bzw. nach Boosterung.

Sekundäre Antikörper auf eine Antigenverabreichung reagieren um vieles weniger radiosensibel als primäre Antikörper auf dasselbe Antigen (Stoner und Hale 1962).

Außerdem zeigt sich ein Unterschied, ob eine Bestrahlung vor oder nach einer zweiten Immunisierung mit demselben Antigen stattfindet. Im letzteren Fall erfolgte in unseren Versuchen ein um bis zu sieben Tage früherer Anstieg der Antikörperproduktion, und die Titer erreichten ihre Höchstwerte ebenfalls eher, als nach einer Bestrahlung vor Reimmunisierung.

Bereits anwesende spezifische Antikörper werden nach Hollingworth (1950) durch subletale Dosen ionisierender Strahlen nicht beeinflußt. Eine Schädigung derselben erfolgt erst durch das 5000- fache einer erträglichen Bestrahlung (Perkins und Marcus, 1957).

Diese Aussage trifft auch für den Fall einer Neutronenbestrahlung zu:

Auch in unseren Untersuchungen zeigt sich, daß präformierte Antikörper durch eine nach der Boosterung erfolgte Neutronenstrahlung im Bereich subletaler Dosen nur unwesentlich beeinflußt werden.

6. Zusammenfassung

Am Modell der Immunisierung von Kaninchen mit Staphylokokken- Enterotoxin- B wurde der Einfluß einer Neutronenbestrahlung auf die Antikörperbildung untersucht.

In je vier Versuchsgruppen wurden die Tiere immunisiert, reimmunisiert und einer Neutronenbestrahlung von 200 rad bzw. 300 rad ausgesetzt. Beide Strahlendosen wurden jeweils vor und nach Immunisierung bzw. vor und nach Reimmunisierung appliziert.

Die Immunantwort wurde mittels RIA ausgewertet.

Aus den Ergebnissen ist folgendes abzuleiten:

1. Neutronen- Bestrahlung 24 h vor Immunisierung wirkt stärker immunsuppressiv als 24 h nach Immunisierung.
2. Eine sekundäre Immunantwort wird durch vorhergehende Bestrahlung stärker beeinträchtigt, als durch nachfolgende Strahlenexposition, die Erholung des lymphoiden Gewebes geschieht jedoch schneller als im Falle einer Bestrahlung vor oder nach Erstimmunisierung.
3. Die Sekundärreaktion einer Boosterung wird durch nachfolgende Neutronenbestrahlung nicht beeinflußt.
4. Sekundäre Antikörperbildung ist weniger radiosensibel als primäre. Bereits vorhandene Antikörper werden durch eine Neutronenbestrahlung kaum geschädigt.

7. Summary

EXPERIMENTAL INVESTIGATION INTO THE EFFECTS OF IRRADIATION WITH MIXED NEUTRON-GAMMA-RAYS ON THE IMMUNE SYSTEM AS DEMONSTRATED BY THE MODEL OF IMMUNITY TO STAPHYLOCOCCAL ENTEROTOXIN B IN RABBITS

Using the model of immunisation of rabbits with Staphylococcal Enterotoxin B the influence of neutron radiation on the antibody response was investigated.

Four groups were formed, which differed by the moment of irradiation with regard to the moment of immunisation and re-immunisation, and were irradiated with neutron-rays of 200 rad and 300 rad doses. Both doses were each given before and after vaccination, respectively before and after re-vaccination. The antibody response has been evaluated by the Radio-Immuno-Assay (RIA).
From the results the following conclusions were drawn:

1. Neutron-radiation given 24 hours before vaccination effects a stronger immune suppression than given 24 hours after vaccination.
2. By pre-antigenic radiation a secondary immune response is more suppressed than by radiation following the antigen; the recovery of lymphoid tissue, however, takes place in a shorter time than in case of radiation before or after a primary vaccination.
3. The secondary antibody response to a re-vaccination is not influenced by a subsequent neutron-radiation.
4. The formation of secondary antibodies is not as radiosensitive as the formation of primary ones. By a neutron-radiation preformed antibodies are hardly damaged.

8. Literaturverzeichnis

ADEKEYE,O. (1980)
Enterotoxin production by strains of Staphylococcus aureus isolated from animals and man in Nigeria
Vet. Microbiology 5 143 - 150

BENJAMIN,E.; SLUKA,E. (1903)
Antikörperbildung nach experimenteller Schädigung des hämatopoetischen Systems durch Röntgenstrahlung
Wien. Klin. Wschr. 21 311 - 313

BERGDOLL,M.S. (1970)
Enterotoxins
in: MONTIE, KADIS, AJL: Microbial toxins
Academic Press, New York u. London 265 - 326

DERSELBE (1972)
The Enterotoxins
in: COHEN, J.O. The Staphylococci
Wiley-Interscience; New York, London, Sydney, Toronto 301 - 331

DERSELBE (1976)
Concerning the structure of the staphylococcal enterotoxins
in: Jeljaszewicz, J. Staphylococci and staphylococcal diseases
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 583 - 586

DERSELBE (1977)
Immunological aspects of staphylococcal enterotoxins
in: CATSIMPOOLAS,M. Immunological aspects of foods
The AVI Publishing Company, Westport, Connecticut 199 - 220

BERGDOLL, M.S.; SURGALLA, M.J.; DACK, G.M. (1959)
Staphylococcal enterotoxin: Identification of a specific precipitating antibody with enterotoxin neutralizing property
J. Immunol. 83 334 - 338

BERGDOLL, M.S.; BORJA, C.R.; AVENA, R.M. (1965)
Identification of a new enterotoxin as enterotoxin C
J. Bact. 90 1481 - 1485

BERGDOLL, M.S.; CHU, F.S.; HUANG, J.J.; ROWE, C.; SHIH, T. (1965)
Staphylococcal enterotoxin B III. The physico-chemical properties and the N- and C-terminal amino acid sequences
Arch. Biochem. Biophys. 112 104 - 110

BERGDOLL, M.S.; BORJA, C.R.; ROBBINS, R.N.; WEISS, K.F. (1971)
Identification of enterotoxin E
Infect. Immun. 4 593 - 595

BERGDOLL, M.S. und ROBBINS, R.N. (1973)
Characterization of types of staphylococcal enterotoxins
J. Milk Food Technol. 36 610 - 612

BERGDOLL, M.S.; CRASS, B.A.; REISER, R.F.; ROBBINS, R.N.; DAVIS, J.P. (1981)
A new staphylococcal enterotoxin, enterotoxin F, associated with toxic-shock-syndrome Staphylococcus aureus isolates
Lancet, 1017 - 1021 und 1118

BERSON,S.A.; YALOW, R.S. (1958)
Isotopic Tracers in the study of Diabetes
Adv. Biol. Med. Phys. 6 349 - 430

BOND, S.A.; EASTERDAY, O.D. (1959)
Effects of heavy particle radiation on acute mortality and survival time in the mouse
Radiat. Res. 10 576 - 583

BRUNNTHALER, F. (1976)
Zu Vorkommen und Bildung von Staphylokokken-Enterotoxin-B in Trinkmilch
Vet. Med. Diss., München

BUXSER, S.; BONVETRE, F.F. (1981)
Staphylococcal enterotoxins fail to disrupt membrane integrity or synthetic functions of Henle 407 intestinal cells
Infect. Immun. 31 829 - 934

CASMAN, E.P. (1960)
Further serological studies on staphylococcal enterotoxin
J. Bact. 79 849 - 856

DERSELBE (1965)
Staphylococcal enterotoxin
Ann. N.Y. Acad. Sci. 128 124 - 131

DERSELBE (1967)
Staphylococcal food poisoning
Health Lab. Sci. 4 199 - 206

CASMAN, E.P.; BERGDOLL, M.S.; ROBINSON, J. (1963)
Designation of staphylococcal enterotoxins
J. Bact. 85 715 - 716

CASMAN, E.P.; BENNET, R.W.; DORSEY, A.E.; ISSA, J.A. (1967)
Identification of a fourth staphylococcal enterotoxin, enterotoxin D
J. Bact. 94 1875 - 1882

CHADWICK, J. (1932)
Possible existence of a neutron particle
Nature (London) 13 426 - 433

CRADDOCK, C.G.; LAWRENCE, J.S. (1948)
The effect of roentgen irradiation on antibody formation in rabbits
J. Immunology 60 241-254

DAVIDS, J.A. (1967)
Bone marrow syndrome in CBA-mice exposed to fast neutrons of 1 MeV mean energy; effect of syngenic bone marrow transplantation
Int. J. Radiat. Biol. 13 173 - 185

DAYHOFF, M. (1972)
Atlas protein sequence structure 5 D 227
zit. nach: BERGDOLL, M.S.; HUANG, J.Y.; SCHANTZ, E.J. (1974)
Chemistry of the staphylococcal enterotoxins
J. Agric. Food Chem. 22 9 - 13

DIXON, F.J.; TALMAGE, D.W.; MAURER, P.H. (1952)
Radiosensitive and radioresistant phases in the antibody response
J. Immunology 68 693 - 700

DIXON, F.J.; ROBERTS, J.C.; WEIGLE, W.O. (1957)
Direct and indirect effects of X-radiation on antibody producing cells
Exp. Medicine 103 417 - 424

DONNELLY, C.B.; LESLIE, J.E.; BLACK, L.A.; LEWIS, K.H. (1967)
Serological identification of enterotoxinogenic staphylococci from cheese
Appl. Microbiol. 15 1382 - 1387

DUNCAN, W.; GREENE, D.; HOWARD, A.; MASSEY, J.B. (1969)
The RBE of 14 MeV neutrons. Observations on colony forming units in mouse bone marrow
Int. J. Radiat. Biol. 15 397 - 403

ECKERT, H.G. (1976)
Die Technik des RIA
Angew. Chemie 88 565 - 573

EINÖDER, T. (1979)
Der Nachweis von Antikörpern gegen Staphylokokken-Enterotoxin-B mittels Agar-Gel-Präzipitation, ELISA und RIA nach parenteraler und aerogener Immunisierung von Kaninchen
Vet. Med. Dissertation, München

EKINS, R.P. (1960)
The estimation of thyroxine in human plasma by an electrophoretic technique
Clin. chem. Acta 5 453

ELLINGER, E. (1951)
Histaminhypothese der biologischen Strahlenwirkung
Schweizer Med. Wschr. 81 61 - 65

EVANS, J.B.; BUETTNER, L.G.; NIVEN, C.F. jr. (1950)
Evaluation of the coagulase test in the study of staphylococci associated with food poisoning
J. Bact. 60 481 - 484

FEY, H. (1978)
Staphylokokken-Enterotoxine in Lebensmitteln und deren Nachweis
Chemische Rundschau 31 6 - 8

FRIEDMANN, J.; WERDER, A.; ROTH, F.J.; GRAHAM, A.B.; MIRA, O.J.; SYVERTON, J.T. (1954)
The synergistic effects of roentgen radiation and cortisone upon susceptibility of mice to pathogenic microorganisms
Am. J. Roentgenol. 71 509 - 519

HOLLINGWORTH, J.W. (1950)
Effects of X-Radiation on passively transferred antibody
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 75 477 - 479

HORNSEY, S.; FIELD, S.B. (1974)
The RBE of cyclotron neutrons for effects on normal tissues
Europ. J. Cancer 10 231 - 234

HUNTER, W.M. (1973)
Radioimmunoassay
in: WEIR, D.W. Handbook of experimental Immunology, 2nd edition
Blackwell scientific publications, Oxford 17 1 - 36

JACOBSON, L.C. (1954)
Radiation Biology
McGraw-Hill, New York

KENNEDY, J.C.; TILL, J.E.; SIMINOVICH, L.; McCULLOCH, A.E. (1965)
Radiosensitivity of the immune response to sheep red cells in the mouse, as measured by the hemolytic plaque method
J. Immunol. 94 715 - 722

KIEFER, J. (1981)
Biologische Strahlenwirkung
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

KOHN, H.J. (1951)
Effect of X-rays upon hemolysin production in rat
J. Immunol. 66 525 - 533

KUHNT, J.V. (1974)
Zum Vorkommen von koagulase-positiven Staphylokokken und Enterotoxinen in sauren Milchprodukten
Vet. Med. Dissertation, München

LOTTER, L.P.; GENIGEORGIS, C.A. (1977)
Isolation of coagulase-positive variants from coagulase-negative enterotoxinogenic staphylococci
Zbl. Bact. Hyg., I. Abt. Orig. A 239 18 - 30

LAWRENCE, J.H.; TENNANT, A. (1937)
The comparative effects of neutrons and X-rays on the whole body
J. Exptl. Medicine 66 667 - 688

MASCHEFSKY, J. (1981)
Die immunogene Wirkung von Staphylokokken-Enterotoxin-B nach Vernetzung bei aerogener und parenteraler Verabreichung an Kaninchen
Vet. Med. Dissertation, München

MINOR, T.E.; MARTH, E.H. (1976)
Staphylococci and their significance in food
Elsevier Scientific Publishing Company
Amsterdam, Oxford, New York

NÜTZEL, F. (1980)
Zum Nachweis von Staphylokokken-Enterotoxin-B mittels Zellkulturen
Vet. Med: Dissertation, München

PERKINS, E.H.; DONALDSON, D.H.; MARCUS, S. (1956)
Susceptibility to infections as a function of post-irradiation time following oral challenge
J. Immunol. 76 169 - 174

PERKINS, E.H.; MARCUS, S. (1957)
Effects of pre-radiation immunisation on resistance aerosol-induced infection in X-irradiated mice
J. Immunol. 79 136 - 141

PIZZARELLO, D. (1982)
Radiation Biology
CRC-Series in Radiotracers in Biology and Medicine; Boca Raton, Florida

PRESSMANN, D.; EISEN, H.N. (1950)
Zone of localisation of antibodies; attempt to saturate antibody binding sites in mouse kidney
J. Immunology 64 273 - 279

PSCHYREMBEL, W. (1975)
Klinisches Wörterbuch 252. Auflage
De Gruyter Verlag, Berlin, New York

READ, R.B.; BRADSHAW, J.G. (1966)
Staphylococcal enterotoxin B; thermal inactivation in milk
J. Dairy Sci. 49 202 - 203

ROSSE, W.F.; RAPP, H.J.; BOVOS, T. (1967)
Structural characteristics of hemolytic antibodies as determined by the effects of ionizing radiation
J. Immunology 98 1190 - 1195

SCHALNOW, M.J. (1963)
Neutronen-Gewebe-Dosimetrie
VEB Verlag der Wissenschaften, Berlin

SCHANTZ, E.J.; ROESSLER, W.G.; WOODBURN, M.J.; LYNCH, J.M.; JACOBY, H.M.; SILVERMAN, S.J.; GORMAN, J.C.; SPERO, L. (1972)
Purification and some chemical and physical properties of staphylococcal enterotoxin A
Biochem. 11 360 - 366

SILVERMAN, S.J.; MOORE, G.T.; ROESSLER, W.G. (1969)
Effect of formaldehyde on the immunogenicity of staphylococcal enterotoxin B for Macaca Mulatta
J. Bact. 98 443 - 446

SOMMERFELD, P.; TERPLAN, G. (1974)
Methoden zum Nachweis von Staphylokokken-Enterotoxinen
Archiv für Lebensmittelhygiene 26 128 - 137

STEINHARDT, I. (1982)
Einfluß von Staphylokokken-Enterotoxinen auf immunologische Vorgänge - Eine Literaturstudie -
Vet. Med. Dissertation, München

STONER, R.D.; HALE, W.M. (1962)
Radiation effects on primary and secondary antibody response
in: Effects of ionizing radiations on immune processes (C.A. Leone ed.)
Gordon and Beach, New York 780 925 - 938

STRECKER, H.; HACHMANN, H.; SEIDEL, L. (1979)
Der Radioimmuno-Assay, eine hochspezifische, extrem empfindliche quantitative Analysen-methode
Chemiker-Zeitung 103 Jhrg. Nr. 2 53 - 68

TERPLAN, G.; ZAADHOF, K.J. (1974)
Detoxifizierung von Toxinen mikrobiellen Ursprungs
Forschungsbericht aus der Wehrmedizin BMVg-FBWM 74-4
Herausgegeben i. A. d. Bundesministeriums der Verteidigung vom Dokumentationszentrum der Bundeswehr; Bonn, Friedrich-Ebert-Allee 34

TIZARD, J.R. (1982)
An introduction to veterinary immunology
2. Auflage
W.B. Saunders Comp., Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Rio de Janeiro, Sydney, Tokio

UNTERMANN, F. (1972)
Diagnostik der Staphylokokken-Lebensmittelvergiftung
Fleischwirtschaft 52 500 - 503

DERSELBE (1980)
Staphylokokken-Enterotoxine
in: BLOBEL, H. u. SCHLIESSER, T.
Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren Band II 131 - 159
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York

UNTERMANN, F.; SINELL, H.J. (1970)
Beitrag zum Vorkommen enterotoxinbildender Staphylokokken
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 215 166 - 172

VLADIMIROV, V.G.; EGOROV, A.E. (1981)
Biologiceskoe dejstvie nejtronnogo ablucenija
(Die biologische Wirkung der Neutronenstrahlen)
in: Voenno-medicinskij zurnal Nr. 9 38 72 - 74

WHITFIELD, J.F.; YOUDALE, T. (1966)
A comparison of effects of radiation and inhibitors of oxidative phosphorylation on the nuclear structure of rat thymocytes
Exptl. Cell. Research 43 153-166

WIENEKE, A.A. (1974)
Enterotoxin production by strains of Staph. aureus isolated from foods and human beings
J. Hyg. (Cambridge) 73 255 - 262

ZAALBERG, O.B.; van de MEUL, V.A.; ROSSI, G. (1973)
The effects on the appearance of antibody forming cells in the mouse spleen following the injection of sheep erythrocytes
Eur. J. Immunology 3 698 - 703

Lebenslauf

Am 14.5.1951 wurde ich, Wolfgang Kraus, als Sohn des Solocellisten Siegfried Kraus und seiner Ehefrau Rosemarie, geb. Krapp, in Mannheim geboren.

Nach dem Besuch der Grundschule in Saarbrücken trat ich im Jahre 1962 in das staatl. Ludwigsgymnasium in Saarbrücken ein, welches ich bis 1966 besuchte.

Im selben Jahr zogen wir um nach Gauting im Landkreis Starnberg, und ich trat in die 9. Klasse des staatl. Theresiengymnasiums in München ein, wo ich im Juni 1971 auch die Reifeprüfung ablegte.

Nach zwei Semestern Chemiestudium in München und einer Tätigkeit als Krankenpfleger am Klinikum rechts der Isar nahm ich im Wintersemester 1974/75 das Studium der Tiermedizin auf, welches ich im Januar 1980 mit dem Staatsexamen erfolgreich beendete. Am 29. Februar 1980 erhielt ich die Approbation als Tierarzt.

Im Mai desselben Jahres heiratete ich meine Frau Johanna, geb. Radler, aus Dachau.

Seit 1. Juni 1980 leben wir in Truchtlaching im Chiemgau, wo ich in der Praxis eines Fachtierarztes für Pferde als Mitarbeiter beschäftigt bin.

Herrn Prof. Dr. H.G. Buschmann danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und die stets gewährte Förderung der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Einöder für die ständige freundschaftliche Unterstützung bei der Durchführung der Versuche.

Herrn Dr. R. Grassler danke ich für die stets großzügig gewährte Freistellung von der Praxisarbeit.

Ferner danke ich meiner Frau Johanna für die unermüdliche Unterstützung bei der Anfertigung der Dissertationsschrift.

Druck:
UNIKOPIE
Adalbertstr. 18
8000 München 40
Tel.: 33 33 63